

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

KARINE GADIOLI DE OLIVEIRA

**VALOR PROGNÓSTICO DOS BIOMARCADORES CARDÍACOS E
INFLAMATÓRIOS NO CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO
ASSOCIADOS À TERAPÊUTICA ONCOLÓGICA**

Tese de Doutorado em Ciências Fisiológicas

**VITÓRIA
2018**

KARINE GADIOLI DE OLIVEIRA

**VALOR PROGNÓSTICO DOS BIOMARCADORES CARDÍACOS E
INFLAMATÓRIOS NO CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO
ASSOCIADOS À TERAPÊUTICA ONCOLÓGICA**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sonia Alves Gouvea

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Nazare Souza Bissoli

**VITÓRIA
2018**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas


REGISTRO DE JULGAMENTO DA DEFESA DE TESE DA CANDIDATA AO
TÍTULO DE DOUTORA PELO PPGCF/CCS/UFES

Nº Matrícula do^(a) Candidato^(a): 2014140482


A Comissão Julgadora que examinou a Tese de Doutorado, intitulada **"Valor prognóstico dos biomarcadores cardíacos e inflamatórios no câncer de cabeça e pescoço associados à terapêutica oncológica"**, apresentada e defendida publicamente pela aluna **Karine Gadioli de Oliveira**, no dia 25 de junho de 2018, às 13h30, decidiu, por unanimidade, aprovar a referida tese de Doutorado e, portanto, declara que a aluna faz jus à obtenção do Título de Doutora em Ciências Fisiológicas.

Vitória – ES, 25 de junho de 2018.



Profª Drª Sonia Alves Gouvea
(Orientadora)


Prof. Dr. Henrique de Azevedo Futuro Neto
(Membro Externo)


Profª Drª Nazaré Souza Bissoli
(Coorientadora)


Prof. Dr. Tadeu Uggere de Andrade
(Membro Externo)


Profª Drª Carmem Luiza Sartório
(Membro Interno)


Profª Drª Ester Miyuki Nakamura Palacios
(Membro Interno)

Oliveira, Karine Gadioli de 1984

Valor prognóstico dos biomarcadores cardíacos e inflamatórios no câncer de cabeça e pescoço associados à terapêutica oncológica. [Vitória] 2018.

118p., 29,7 cm (UFES, D.Sc. Ciências Fisiológicas, 2018).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sonia Alves Gouvea

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Nazaré Souza Bissoli

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

1. Câncer de cabeça e pescoço 2. PCR 3. NT-proBNP 4. cTnT 5. Citocinas 6. Tratamento 7. Sobrevida 8. Prognóstico

AGRADECIMENTOS

A Deus pela saúde e proteção, pois sem ele nada seria possível.

Aos meus pais e irmãos. Especialmente aos meus pais que sempre se sacrificaram pelos filhos, sempre dando o melhor e com muito carinho. Amo muito todos vocês.

Ao meu amor Renato, que sempre esteve ao meu lado, com muita paciência e compreensão.

A Prof^a. Dr^a. Sônia Alves Gouvea, que é uma professora extraordinária a quem me espelho sempre. Além dos ensinamentos técnicos, você me ensinou a compreender as pessoas e as particularidades de cada um, sempre de alto astral, mesmo diante das dificuldades. Conte sempre comigo, porque antes de ser minha orientadora eu a considero uma amiga do coração. Muito obrigada por me deixar fazer parte da pesquisa, pela amizade, ensinamentos, por tudo!

A Prof^a. Dr^a. Nazaré Souza Bissoli, que sempre me recebeu carinhosamente e me apoiou durante a realização da pesquisa, sendo uma co-orientadora sempre presente, dedicada e solícita.

Aos amigos do laboratório Polyana, Glauciene, Antonio, Izabela, Marcela, Pablo, pelo companheirismo e que mesmo não participando dos mesmos projetos, a companhia, as conversas, almoços e brincadeiras ajudavam a adoçar a vida na pesquisa. Meus sinceros agradecimentos.

Ao Hospital Santa Rita pelo acesso aos pacientes e aos Profs. Tadeu U de Andrade e Silvana S Meyrelles por terem disponibilizado os Kits e as dosagens das citocinas.

A CAPES e FAPES pelo apoio financeiro.

Expresso aqui o mais profundo agradecimento a todos aqueles que tornaram a realização deste trabalho possível!

*“Sonhe com o que você quiser. Vá para onde você queira ir.
Seja o que você quer ser, porque você possui apenas uma vida
e nela só temos uma chance de fazer aquilo que queremos.
Tenha felicidade bastante para fazê-la doce.
Dificuldades para fazê-la forte.
Tristeza para fazê-la humana.
E esperança suficiente para fazê-la feliz.”*

Clarisse Lispector

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 CANCER E DOENÇAS CARDIOVASCULARES	15
1.2 PROTEINA C REATIVA (PCR).....	19
1.3 NT-proBNP	21
1.4 TROPONINA T	24
1.5 CITOCINAS	26
2. OBJETIVOS.....	32
2.1 OBJETIVO GERAL.....	32
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	33
3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO	33
3.2 GRUPO DE ESTUDO	33
3.3 AFERIÇÃO DA PRESSÃO	34
3.4 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS.....	34
3.5 COLETA DE SANGUE PERIFÉRICO.....	34
3.6 DOSAGEM DA PCR, NT-proBNP e cTnT-us.....	35
3.7 DOSAGEM DE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS.....	35
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
4. RESULTADOS.....	38
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA ESTUDADA	38
4.2 AVALIAÇÃO DOS BIOMARCADORES EM RELAÇÃO AS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS.....	40
4.3 ANÁLISE DA SOBREVIDA GLOBAL EM RELAÇÃO AS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS E BIOMARCADORES	45

4.4 REGRESSÃO DE COX UNIVARIADA E MULTIVARIADA DA SOBREVIDA EM RELAÇÃO AOS FATORES CLÍNICO-PATOLÓGICOS E OS BIOMARCADORES	57
4.5 AVALIAÇÃO DOS BIOMARCADORES ANTES E APÓS O TRATAMENTO..	60
4.6 CORRELAÇÃO ENTRE OS BIOMARCADORES E OS TIPOS DE TRATAMENTOS.....	61
5. DISCUSSÃO.....	63
6. CONCLUSÃO.....	73
7. REFERÊNCIAS.....	74
8. ANEXOS.....	94
8.1 ANEXO 1: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO.....	94
8.2 ANEXO 2: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	96
8.3 ANEXO 3: ARTIGO CIENTÍFICO SUBMETIDO.....	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características da amostra estudada (n = 118).....	39
Tabela 2: Concentração dos biomarcadores e relação às características clínico-patológicas.....	41
Tabela 3: Análise da sobrevida global (3 anos) em relação as variáveis clínico-patológicas (n = 118).....	46
Tabela 4: Análise de regressão de Cox univariada e multivariada para sobrevida segundo as variáveis clínico-patológicas e níveis plasmáticos dos biomarcadores.....	58
Tabela 5: Correlação entre os biomarcadores antes e após da cirurgia e radioquimioterapia.....	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Vias alteradas na patogênese do CCP identificadas em estudos de sequenciação de todo o exoma.....	17
Figura 2: Principais ações fisiológicas do peptídeo natriurético tipo B (BNP).....	22
Figura 3: Relação hipotética entre câncer e o nível de BNP.....	24
Figura 4: Citocinas pró (Th1) e anti-aterogênicas (Th2).....	28
Figura 5: Curva de Kaplan-Meier demonstrando a sobrevida global em 3 anos de 68,6% dos pacientes com CCP (n = 118).....	47
Figura 6: Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP (n = 104) em relação a Proteína C reativa (PCR). Curva de Kaplan-Meier.....	48
Figura 7: Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP (n = 80) em relação ao NT-proBNP. Curva de Kaplan-Meier.....	49
Figura 8: Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP (n = 88) em relação a troponina cardíaca T (cTnT). Curva de Kaplan-Meier.....	50
Figura 9: Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP (n = 101) em relação interleucina-17A (IL-17A). Curva de Kaplan-Meier.....	51
Figura 10: Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP (n = 45) em relação ao interferon- γ (INF- γ). Curva de Kaplan-Meier.....	52
Figura 11: Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP (n = 48) em relação ao fator de necrose tumoral- α (TNF- α). Curva de Kaplan-Meier.....	53
Figura 12: Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP (n = 108) em relação a interleucina-10 (IL-10). Curva de Kaplan-Meier.....	54
Figura 13: Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP (n = 26) em relação a interleucina-6 (IL-6). Curva de Kaplan-Meier.....	55
Figura 14: Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP (n = 107) em relação a interleucina-4 (IL-4). Curva de Kaplan-Meier.....	56
Figura 15: Avaliação da PCR (n = 100), NT-proBNP (n = 79), cTnT (n = 88), IL-17A (n = 100), INF- γ (n = 19), TNF- α (n = 21), IL-10 (n = 107), IL-6 (n = 8) e IL-4 (n = 101) antes e após o tratamento.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-FU: 5-fluorouracil

BNP: Peptídeo natriurético tipo B

CAMs: moléculas de adesão

CCP: Câncer de cabeça e pescoço

cTnT: Troponina cardíaca T

DCVs: Doenças cardiovasculares

EGFR: receptor do fator de crescimento epidermal

eNOS: óxido nítrico sintase endotelial

ERK: quinases reguladas por sinal extracelular

IL-10: Interleucina-10

IL-12: Interleucina-12

IL-17A: Interleucina-17A

IL-1 β : Interleucina-1beta

IL-2: Interleucina-2

IL-4: Interleucina-4

IL-6: Interleucina 6

IL-7: Interleucina-7

IL-8: Interleucina-8

IMC: Índice de massa corporal

INCA: Instituto Nacional do Câncer

INF- γ : interferon gama

MCP-1: proteína quimiotática de monócito

NF- κ B: fator de transcrição nuclear kappa B

NT-proBNP: fragmento N-terminal do proBNP

OMS: Organização Mundial de Saúde

PAD: Pressão arterial diastólica

PAS: Pressão artéria sistólica

PCR: Proteína C reativa

PI3KCA: fosfatidilinositol 4,5-bifosfato 3-quinase, subunidade catalítica alfa

Rb: Retinoblastoma

TGF- β : fator transformador do crescimento β

Th1: linfócitos T auxiliares 1

Th2: linfócitos T auxiliares 2

TNF- α : fator de necrose tumoral alfa

TNM: tamanho do tumor primário, envolvimento regional de linfonodo, presença de metástase

RESUMO

Atualmente, o câncer é a segunda maior causa de morte no Brasil, superado apenas pelas doenças cardiovasculares. A terapêutica oncológica tem evoluído e melhorou o prognóstico dos pacientes oncológicos. No entanto, apesar do benefício clínico inquestionável desse tipo de terapia, muitos destes fármacos podem causar efeitos indesejáveis no sistema cardiovascular. O câncer de cabeça e pescoço (CCP) é o sexto tipo de câncer mais comum em todo o mundo e o prognóstico para esses pacientes é pobre e pouco tem melhorado nas últimas décadas. Pacientes com CCP têm um risco elevado de mortalidade não relacionada ao câncer e uma das causas mais frequentes são as DCVs. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar o valor preditivo dos marcadores de lesão cardíaca, proteína C reativa (PCR), fragmento N-terminal do proBNP (NT-proBNP), troponina cardíaca T (cTnT), e das citocinas (IL-17A, INF- γ , TNF- α , IL-10, IL-6, IL-4) no risco cardiovascular associado à terapêutica oncológica no carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Foram incluídos 118 pacientes com diagnóstico confirmado de carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço e os dados clínico-epidemiológicos foram obtidos com a coleta de sangue, antes e após a terapêutica oncológica. O presente estudo mostrou que níveis elevados de PCR e NT-proBNP antes do tratamento do CCP estão associados com baixa sobrevida global em 3 anos e pior prognóstico do CCP independente de sexo, idade, tabagismo, etilismo, estadiamento, localização do tumor primário, índice de massa corporal, pressão arterial sistólica e do tratamento (exceto a radioterapia). Apesar da cTnT não ter influenciado na sobrevida desses pacientes, ela foi correlacionada positivamente com o tratamento cirúrgico e a radioquimioterapia. Além disso, foi observado um desequilíbrio no perfil de citocinas pró e anti-inflamatórias após o tratamento do CCP, com um aumento da IL-6 e redução da IL-10, IL-4 e TNF- α . Portanto, estratégias que avaliem e acompanhem os pacientes com CCP durante o tratamento é de suma importância para tentar melhorar a resposta ao tratamento, ou implantar novas terapias para aumentar a sobrevida e dar uma qualidade de vida aos pacientes com CCP.

Palavras-Chave: Câncer de cabeça e pescoço, PCR, NT-proBNP, cTnT, Citocinas, Tratamento, Sobrevida, Prognóstico.

ABSTRACT

Currently, cancer is the second largest cause of death in Brazil, surpassed only by cardiovascular diseases. Oncologic therapy has evolved and improved the prognosis in cancer patients. However, despite the unquestionable clinical benefit of this type of therapy, many of these drugs can cause undesirable side effects in the cardiovascular system. Head and neck cancer is the sixth most common cancer in the world and the prognosis for these types of patients is poor and has not improved in the last decades. Head and neck cancer patients have a high risk of non-cancer related mortality and one of the most frequent causes is cardiovascular disease. Therefore, the aim of this study was to evaluate the predictive value of C Reactive Protein (CRP), N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP), cardiac troponin T (cTnT), and cytokines (IL-17A, INF- γ , TNF- α , IL-10, IL-6, IL-4) in cardiovascular risk associated with oncologic therapy in head and neck squamous cell carcinoma. Thus, 118 patients with confirmed diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma have been included in this study, and clinical-epidemiological data have been obtained with blood collection before and after cancer therapy. This current study has shown that high levels of CRP and NT-proBNP are associated with poor 3-year overall survival and poor prognosis, unrelated to gender, age, smoking or alcohol consumption, staging, primary tumor location, body mass index, systolic blood pressure, and treatment (except radiotherapy). Although cTnT did not influence the survival of these patients, it has been positively correlated to surgical treatment and radiochemotherapy. In addition, an imbalance in pro- and anti-inflammatory cytokine profile has been observed after treatment, with an increase in il-6 and reduction of IL-10, IL-4 and TNF- α . Therefore, strategies that evaluate and follow up patients with head and neck cancer during treatment are extremely important to improve the response to treatment or to implement new therapies to increase survival and provide quality of life for head and neck cancer patients.

Key words: Head and neck cancer, CRP, NT-proBNP, cTnT, Cytokines, Treatment, Survival, Prognosis.

1. INTRODUÇÃO

1.1 CANCER E DOENÇAS CARDIOVASCULARES

As doenças e agravos não transmissíveis são as principais responsáveis pelo adoecimento e óbito da população no mundo (INCA, 2018). Segundo as estimativas, em 2008, ocorreram 36 milhões dos óbitos (63%) em consequência das doenças e agravos não transmissíveis, com destaque para as doenças cardiovasculares (DCV) (48%) e o câncer (21%) (WHO, 2013).

Atualmente, o câncer é a segunda maior causa de morte no Brasil, superado apenas pelas doenças cardiovasculares (Brasil, 2018). No entanto, a partir de 2029 teremos mais brasileiros morrendo de câncer do que de DCVs (Matarazzo et al., 2017). Ao longo dos últimos anos, a terapêutica oncológica tem evoluído com o desenvolvimento e a implementação de intensivos tratamentos antineoplásicos que melhoraram substancialmente o prognóstico dos pacientes oncológicos (Minami et al., 2010).

No entanto, apesar do benefício clínico inquestionável desse tipo de terapia, não se deve subestimar o perfil de segurança do seu uso. De fato, devido aos seus mecanismos de ação, muitos destes fármacos podem causar efeitos indesejáveis no sistema cardiovascular (Yeh e Bickford, 2009; Adão et al., 2013). Os efeitos cardiovasculares adversos mais frequentes dos tratamentos do câncer incluem disfunção ventricular esquerda (sintomática ou assintomática), hipertensão, arritmias, intervalo QT prolongado, tromboembolismo, isquemia miocárdica e insuficiência renal (Yeh e Bickford, 2009; Fiuza et al., 2016).

Os efeitos adversos cardíacos dessas drogas podem afetar a qualidade de vida e a sobrevida global desses pacientes, independente do prognóstico relacionado ao câncer (Henri et al., 2016). Infelizmente, o prognóstico da cardiomiopatia induzida pelo tratamento do câncer pode ser pior do que a malignidade para a qual foi indicada (Herrmann e Lerman, 2014).

As estimativas para o biênio 2018-2019 apontam para a ocorrência de aproximadamente 600 mil casos novos de câncer no Brasil (INCA, 2018). Desse total, 11.200 casos novos acometerão a cavidade oral em homens e 3.500 em mulheres. Tais valores correspondem a um risco estimado de 10,86 casos novos a cada 100 mil homens, ocupando a quinta posição; e de 3,28 para cada 100 mil mulheres, sendo o 12º mais frequente entre todos os cânceres (INCA, 2018).

O câncer de cabeça e pescoço (CCP) compreende um grupo de neoplasias que surgem na cavidade oral, faringe e laringe. É o sexto tipo de câncer mais comum em todo o mundo, representando cerca de 6% dos casos de câncer (Leemans et al., 2011; Kamangar et al., 2006). Cerca de 40% desse tipo de câncer ocorrem na cavidade oral, 15% na faringe e 25% na laringe, sendo que em 90% dos casos o tipo histológico mais frequente é o carcinoma de células escamosas (Lothaire et al., 2006; Colombo e Rahal, 2009).

Evidências mostram que o risco desse tipo de câncer aumenta com a idade, com uma média de 55 anos e os fatores de risco já estabelecidos pela literatura são o uso contínuo do tabaco e de bebidas alcoólicas (Gouvea et al., 2010; Hashibe et al., 2009; Dobrossy, 2005). Outros fatores etiológicos também apresentados com possível associação para o aumento do risco são: infecções pelo HPV, dieta pobre em frutas e vegetais e má higiene bucal (Andreotti et al., 2006; Oliveira et al., 2009; American Cancer Society, 2017)

O CCP surge a partir de acontecimentos genéticos que levam a inativação de genes supressores de tumores e/ou à ativação dos proto-oncogenes (Forastiere et al., 2001). As alterações genéticas no CCP estão associadas a diferentes vias de sinalização (Figura 1). As vias supressoras do tumor, incluindo o gene p53, proteína do Retinoblastoma (Rb), NOTCH, PI3KCA (fosfatidilinositol 4,5-bifosfato 3-quinase, subunidade catalítica alfa) e EGFR (receptor do fator de crescimento epidermal); e TGF- β /SMAD que possuem um papel fundamental na patogênese da doença. Estes genes e outros genes do CCP desempenham papéis importantes em, pelo menos, quatro vias funcionais principais: proliferação celular (vias p53 e Rb), diferenciação terminal (via

NOTCH), sobrevivência celular (vias PI3KCA e EGFR), e adesão e invasão (via TGF- β /SMAD), com muitos dos genes envolvidos em mais do que uma única via (Rothenberg e Ellisen, 2012).

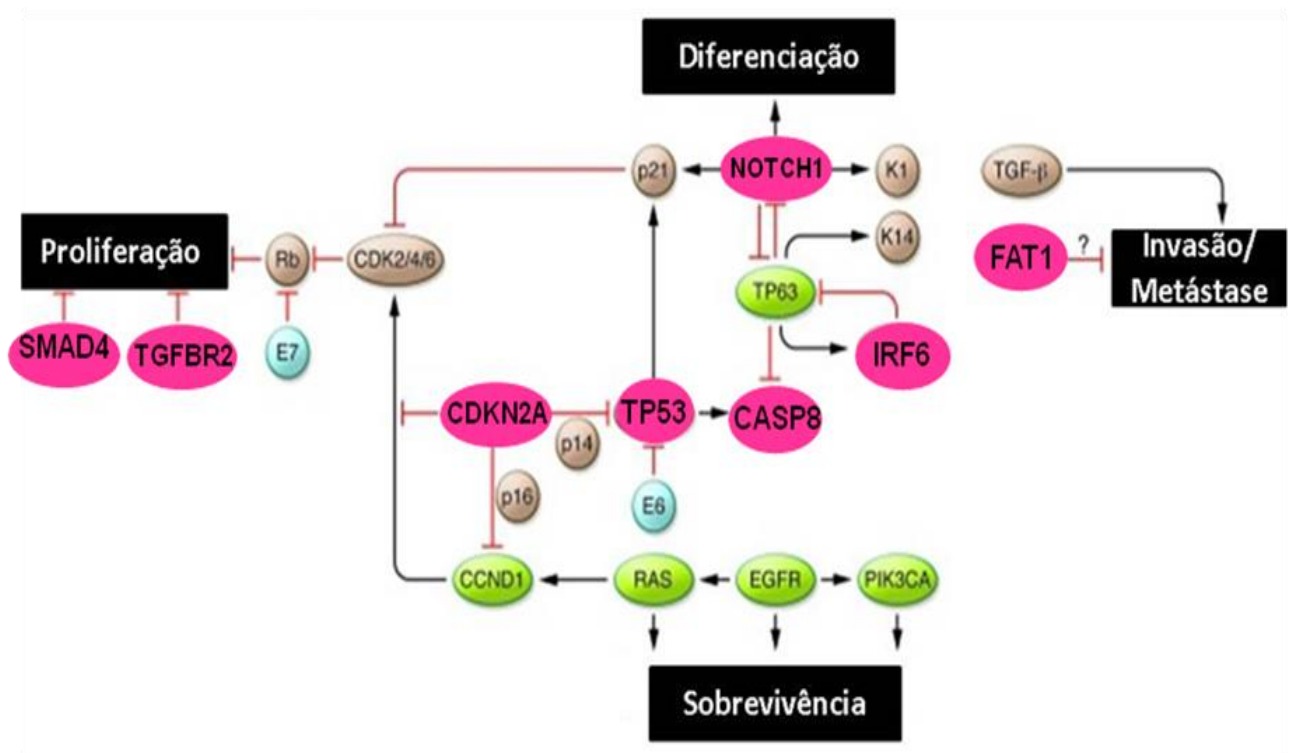


Figura 1. Vias alteradas na patogênese do CCP identificadas em estudos de sequenciação de todo o exoma. Vermelho: supressores de tumores putativos e estabelecidos; verde: oncogenes; castanho: outros genes/proteínas relevantes; azul: proteínas virais. A perda de TP53 e CDKN2A, amplificação de CCND1 e perda de TGFBR2 / SMAD4 permitem a proliferação anormal e diminuição da apoptose. No entanto, o ciclo celular anormal ainda pode ser restringido por programas de diferenciação intacta e apoptóticos. A perda de NOTCH1 e / ou expressão anormal de TP63, juntamente com alterações em genes de “sobrevivência” (por exemplo, CASP8, PIK3CA, EGFR), podem remover barreiras adicionais à proliferação e sobrevivência de células tumorais. A perda de genes de adesão celular (por exemplo, FAT1) pode permitir a liberação de células do revestimento da mucosa, enquanto a invasão através da membrana basal é promovida por TGF- β (e SMAD3). Modificado de Rothenberg e Ellisen, 2012.

O prognóstico para esses pacientes com CCP é pobre, pouco tem melhorado nas últimas décadas e possui uma taxa de mortalidade estimada de aproximadamente 12,300 mortes por ano (Conway et al., 2009; McMahon e Chen, 2003). No Brasil a taxa de sobrevida em 5 anos é de 50% variando de 29% nos estádios iniciais a 74,4% nos estádios mais avançados (INCA, 2001). Além disso, é o oitavo câncer mais associado com o pior prognóstico (Kyrgias et al., 2016).

Um estudo realizado pelo nosso grupo, no Hospital Santa Rita em 2013, verificou que 65,4% dos casos de CCP estavam em estágio avançado (estádios III e IV) (Oliveira et al., 2014a). Dados que evidenciam a importância do diagnóstico precoce contribuindo para um melhor prognóstico da doença.

O protocolo de tratamento pode variar de acordo com estadiamento clínico da neoplasia no momento do diagnóstico. No estágio inicial do CCP (estadiamento I e II), o principal tratamento é o uso individual de radioterapia ou cirurgia. Na doença em estágio mais avançado (III e IV), recomenda-se o tratamento combinado, o que pode levar a cirurgia com posterior radioterapia, radioquimioterapia simultânea, ou as três modalidades associadas (Schmidt et al., 2016)

Vários regimes têm sido descritos para a quimioterapia no CCP, na maioria utilizando a cisplatina e o 5-fluorouracil (5-FU) (Bernardo e Nunes, 2010). No entanto, a cisplatina usada no tratamento de diversos tumores, dentre eles os tumores de pulmão, testículo e bexiga, pode estar relacionada ao aumento da incidência de hipertensão arterial sistêmica, obesidade, maior ocorrência de eventos coronarianos e disfunção ventricular esquerda. O uso do 5-FU está associado a uma incidência de cardiotoxicidade que varia de 1 a 68% e o sintoma mais frequente é a dor anginosa, mas há relatos de arritmias, infarto agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca e choque cardiogênico (Yeh e Bickford, 2009). Porém, o mecanismo exato dessas sequelas não é totalmente claro, acredita-se que esteja relacionado ao vasoespasma coronário e a toxicidade miocárdica celular com base em estudos angiográficos (Sorrentino et al., 2012; Adão et al., 2013)

Pacientes com CCP têm um risco elevado de mortalidade não relacionada ao câncer; as causas mais frequentes dessa mortalidade são: doença cardiovascular (28%), doença pulmonar obstrutiva crônica (8,5%) e doença cerebrovascular (5,6%) (Rose et al., 2011). Estudos sugerem um possível papel dos biomarcadores como importantes indicadores de sobrevivência e decisão de tratamento no CCP (Haddad e Shin, 2008; Peter et al., 2013; Kang et al., 2015). Além disso, a avaliação de biomarcadores pode ser uma ferramenta diagnóstica válida para identificação, avaliação e monitoramento precoce da cardiotoxicidade (Cardinale e Sandri, 2010).

Dessa forma, o estudo de biomarcadores para identificar o risco cardiovascular, especificamente nos pacientes com CCP, antes e após o tratamento antineoplásico, necessita ser investigado e é uma estratégia atrativa que pode diagnosticar um dano precoce e subclínico proporcionando o uso de medidas potencialmente cardioprotetoras. Alguns destes marcadores serão descritos a seguir.

1.2 PROTEINA C REATIVA (PCR)

A PCR é uma proteína marcadora de fase aguda da inflamação e sua síntese nos hepatócitos pode ser regulada por citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1, IL -6 e TNF- α (Kruse et al., 2010). É um biomarcador descrito na literatura como um fator preditivo de doenças cardiovasculares e diabetes (Casas et al., 2008; Nakou et al., 2008), além de ser associada com o risco de câncer em indivíduos saudáveis (Allin et al., 2009) e baixa sobrevida em pacientes com câncer de mama (Heikkila et al., 2007), ovário (Hefler et al., 2008), oral (Chen et al., 2014; Tai et al., 2017), esôfago (Gockel et al., 2006) e hepatocelular (Hashimoto et al., 2005). Assim, são necessários estudos que associem o nível de PCR com o risco cardiovascular no CCP e, ainda, que avaliem seus níveis antes e após a terapêutica oncológica.

A produção da PCR aumenta dentro de 4 a 6 horas após o início da inflamação, duplica a cada 8 horas e atinge o pico em aproximadamente 36 a 50 horas. Os níveis permanecem elevados com inflamação contínua e retornam rapidamente ao normal quando a inflamação regride. Esse metabolismo da PCR, que se assemelha ao curso inflamatório, juntamente com sua facilidade de determinação sérica, sustenta seu valor como uma medida da atividade da doença (Mahmoud e Rivera, 2002).

As células inflamatórias produzem um ambiente atraente para o crescimento do tumor, induzem danos ao DNA, promovem a angiogênese, metástases e, assim, podem influenciar no prognóstico do câncer (Mahmoud e Rivera, 2002; Allin et al., 2009). Os possíveis mecanismos para a associação entre a inflamação e o câncer são: primeiro, o próprio crescimento do tumor pode causar inflamação do tecido circundante e aumentar os níveis da PCR. Segundo, as células tumorais produzem várias citocinas e quimiocinas que estimulam a produção de PCR no fígado (Mantovani et al., 2008; Allin e Nordestgaard, 2011). Gerando assim, um mecanismo de retroalimentação para a produção da PCR.

Em relação ao sistema cardiovascular o aumento do nível da PCR é considerado um importante fator de risco para aterosclerose, infarto do miocárdio, doença vascular periférica e acidente vascular cerebral (Casas et al., 2008; Nakou et al., 2008). Estudos demonstraram sua presença nos tecidos inflamados (Hatanaka et al., 1995), nos vasos ateroscleróticos (Lagrand et al., 1999; Lagrand et al., 1997) e no miocárdio infartado (Kushner et al., 1963). Também foi demonstrado que a PCR aumenta a expressão do fator tecidual (efeito pró-coagulante) (Cermak et al., 1993; Ridker et al., 1998), de moléculas de adesão (Pasceri et al., 2001), liga-se à lipoproteínas plasmáticas e ativa o sistema complemento (Yasojima et al., 2001), presente na maioria das células esponjosas das placas ateroscleróticas.

A PCR não é um mero marcador de atividade inflamatória, mas participa diretamente do processo aterosclerótico por vários mecanismos: a) inibe a

transcrição da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) nas células endoteliais, levando a um decréscimo na liberação basal de óxido nítrico; b) promove a expressão de moléculas de adesão (CAMs) pelas células endoteliais, induz a MCP-1 (proteína quimiotática de monócito) e promove a captação de colesterol pelos macrófagos; c) estimula os monócitos a produzir o fator tissular e citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e TNF- α) por meio da estimulação do fator de transcrição nuclear kappa- β (Volp et al, 2008).

Por outro lado, a PCR também apresenta alguns efeitos anti-inflamatórios, pois diminui a adesão de neutrófilos às células endoteliais, inibe a geração de superóxido pelos neutrófilos e estimula a síntese de antagonistas dos receptores IL-1 pelos monócitos (Mahmoud e Rivera, 2002).

O aumento dos níveis de PCR detectados em pacientes com câncer avançado pode prever várias condições graves, incluindo a síndrome da anorexia-caquexia, recorrência do tumor, extensão da doença e infecções, que diminuem as chances de sobrevivência (Ansar e Ghosh, 2013). Assim, ela tem sido utilizada nos estudos como um fator prognóstico independente no câncer.

1.3 NT-proBNP

Os peptídeos natriuréticos, como peptídeo natriurético tipo B (BNP) e o fragmento N-terminal do proBNP (NT-proBNP), são produzidos e secretados pelos cardiomiócitos em resposta a sobrecarga de volume e pressão nos ventrículos e são preditores de eventos adversos cardiovasculares importantes (Cacciapuoti, 2010; Maries e Manitiu, 2013). O gene do BNP codifica um pró-hormônio que é clivado no cardiomiócito produzindo o hormônio ativo BNP e o fragmento N-terminal do proBNP (NT- proBNP), biologicamente inativo, mas secretado na circulação em quantidades equimolares ao BNP (Cacciapuoti, 2010).

O NT-proBNP, uma molécula maior contendo 76 aminoácidos, tem uma meia-vida plasmática mais longa do que a do BNP (120 minutos *versus* 20 minutos)

e, conseqüentemente, níveis circulantes mais elevados, o que facilita sua dosagem no parâmetro clínico (Andreadis e Geladari, 2015). O NT-proBNP é de grande interesse devido ao seu possível papel no monitoramento da insuficiência cardíaca e nas síndromes coronarianas. Os efeitos do BNP na diurese e natriurese em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva representam um mecanismo compensatório para o estresse nos cardiomiócitos, o que leva à disfunção ventricular (Cacciapuoti, 2010). Na angina instável, o NT-proBNP representa um marcador eficaz do dano causado pela isquemia cardíaca e a gravidade da doença coronariana é evidenciada por um aumento dos seus níveis (Lotzniker et al., 2005; Cacciapuoti, 2010).

Os peptídeos natriuréticos tipo B exercem vários efeitos fisiológicos que estão descritos na Figura 2.

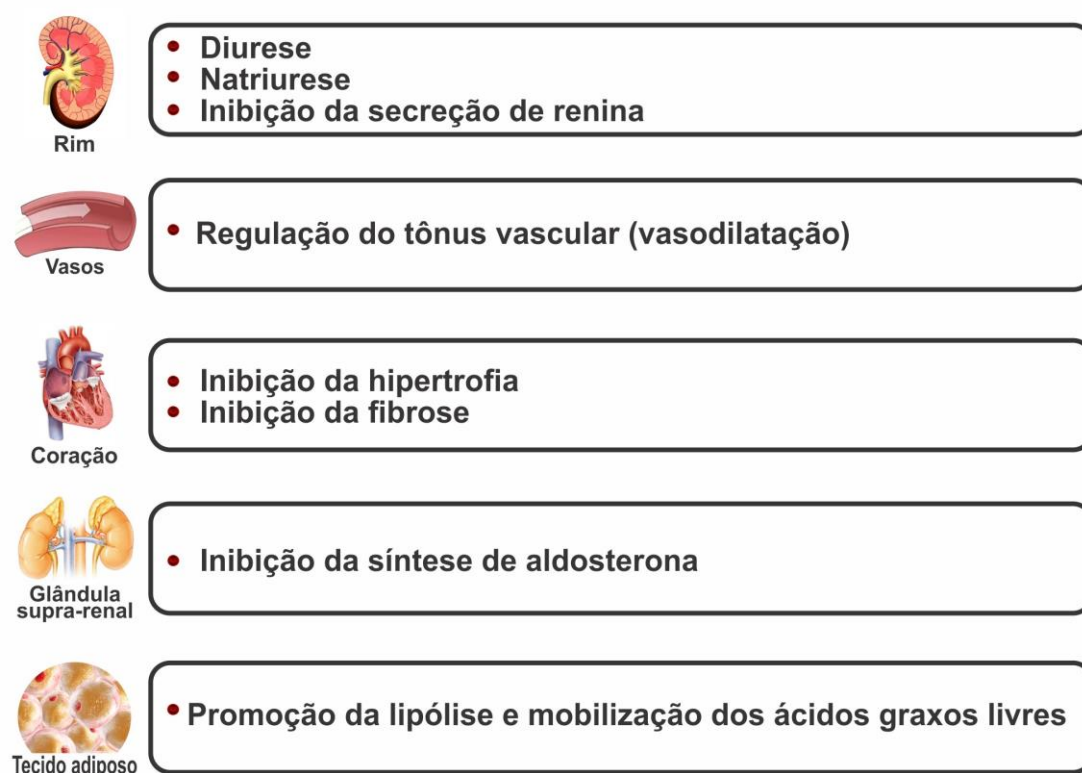


Figura 2. Principais ações fisiológicas do peptídeo natriurético tipo B (BNP). (Adaptado de Andreadis e Geladari, 2015).

Níveis elevados de vários peptídeos cardiovasculares, incluindo o BNP e o NT-proBNP, foram relatados em pacientes com câncer sem qualquer manifestação clínica de doença cardíaca (Burjonrappa et al., 2007; Hou et al., 2008; Pavo et

al., 2015; Bando et al., 2017). Além disso, estudos relatam que os peptídeos natriuréticos reduzem o número de células escamosas do carcinoma de pulmão e inibem a progressão de vários tipos de câncer, como o câncer de pâncreas, de mama, de pulmão e de próstata, in vivo e in vitro (Vesely, 2006). Acredita-se que o mecanismo subjacente seja a inibição das quinases reguladas por sinal extracelular ativadas por mitógeno (ERK) 1/2 e a síntese de DNA, mediada em parte por GMP cíclico (Vesely, 2009).

Por outro lado, os níveis aumentados de BNP no câncer podem ocorrer devido à associação com a inflamação, independente da função cardíaca (Bando et al., 2017) (Figura 3). No câncer, as condições inflamatórias estão presentes antes que uma alteração maligna ocorra ou uma mudança oncogênica gerando um microambiente inflamatório que promove o desenvolvimento de tumores (Mantovani et al., 2008) e, adicionalmente, o BNP demonstrou ser regulado em nível transcricional e translacional por citocinas pró-inflamatórias nos cardiomiócitos (LaPointe, 2005).

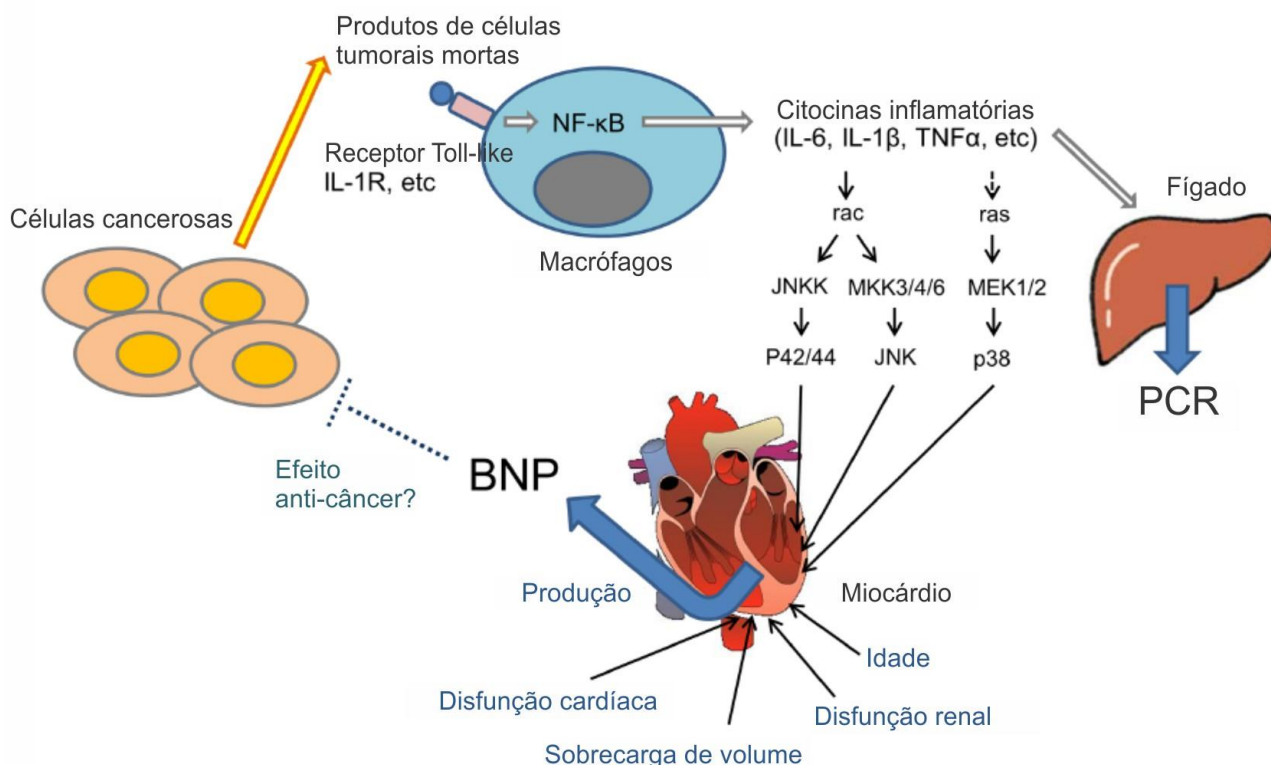


Figura 3. Relação hipotética entre câncer e o nível de BNP. No microambiente tumoral, as células inflamatórias, incluindo macrófagos, produzem várias citocinas em resposta a células tumorais e necrose tecidual. Nos cardiomiócitos, a síntese de BNP mostrou-se regulada ao nível transcricional por citocinas inflamatórias. (Adaptado de Bando et al., 2017)

Até o presente momento, a avaliação dos níveis de NT-proBNP no CCP foi pouco estudada e necessita de uma investigação, pois além do envolvimento do NT-proBNP na inflamação relacionada ao câncer e em eventos cardiovasculares, a terapia anti-câncer do CCP inclui radiação e quimioterápicos que podem aumentar os níveis dos peptídeos natriuréticos levando a cardiotoxicidade e influenciando o prognóstico e estado clínico do paciente.

1.4 TROPONINA T

As troponinas (Tn) são proteínas localizadas no filamento fino do aparelho contrátil muscular esquelético e cardíaco, que regulam a interação cálcio-dependente entre a actina-miosina. São compostas de três subunidades: troponina I (subunidade inibidora da actina), troponina T (subunidade ligada à

miosina – tropomiosina) e a troponina C (subunidade ligada ao cálcio e reguladora da contração) (Katrukha, 2013). A troponina C é idêntica tanto no músculo esquelético como no cardíaco, não sendo utilizada como marcador para injúria miocárdica (Cardinale et al., 2017).

As Troponinas cardíacas - troponina cardíaca T (cTnT) e troponina cardíaca I (cTnI) - são marcadores bem estabelecidos, específicos e sensíveis de lesão miocárdica, amplamente utilizados para o diagnóstico e a estratificação de risco de síndromes coronarianas agudas (Alpert et al., 2000). A cTnT e cTnI são igualmente sensíveis para o diagnóstico do infarto agudo do miocárdio (Lee et al., 2014), porém possuem pequenas diferenças na cinética após lesão dos miócitos. A cTnT atinge um pico entre 12-48 horas e a cTnI em até 24 horas, sendo detectável no sangue em 5-14 dias (TnT) ou 5-10 dias (TnI) (Gelfand e Rosen, 2009)

A elevação da troponina T no plasma é geralmente devido à necrose dos cardiomiócitos (Oluleye et al., 2013). O desenvolvimento de um ensaio de detecção de cTnT-ultra sensível (us) permitiu detectar uma concentração 10 vezes menor do que o ensaio convencional de cTnT e, assim, estudos demonstraram que a cTnT-us está positivamente associada à doença coronariana, insuficiência cardíaca, mortalidade por doença cardiovascular e mortalidade por todas as causas (deFilippi et al., 2010; de Lemos et al., 2010; Saunders et al., 2011).

Um estudo realizado por Chen e colaboradores (2014) demonstrou, pela primeira vez, a expressão de cTnI em células tumorais de pacientes com câncer de pulmão e, em outro estudo, a expressão de cTnT foi encontrada em tumores de células endoteliais de camundongos (Ara et al., 2014). Resultados que desafiam a visão convencional das troponinas como proteínas específicas do coração, sugerindo seu uso como um marcador no câncer ou como alvo terapêutico.

1.5 CITOCINAS

As citocinas são glicoproteínas extracelulares, de peso molecular entre 8-15 kDa, produzidas por diversos tipos de célula no local da lesão e por células do sistema imunológico através da ativação de proteínas quinases ativadas por mitógenos. (Oliveira et al., 2011). As citocinas atuam especialmente por mecanismos parácrino (em células vizinhas) e autócrino (nas próprias células produtoras) e uma única citocina pode agir em diversos tipos de células, fenômeno denominado pleiotropia (Zhang e An, 2007; Lin et al., 2000; Sommer e White, 2010).

Elas são formadas, com frequência, em cascata e exercem seus efeitos biológicos quando se ligam a receptores específicos, ativando mensageiros intracelulares que regulam a transcrição gênica influenciando a atividade, diferenciação, proliferação e sobrevivência da célula imunológica (Oliveira et al., 2011). Assim, as citocinas são importantes reguladoras da hematopoiese, das reações imunológicas, inflamatórias e vasculares (Kofler et al., 2005).

As citocinas podem ter ações pró ou anti-inflamatórias, de acordo com o microambiente no qual estão localizadas. Dentre as consideradas pró-inflamatórias, temos as interleucinas (IL) 1 β , 2, 6, 7, INF- γ (interferon gama) e TNF- α e as anti-inflamatórias são IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β (fator transformador do crescimento β) (Curfs et al., 1997; Zhang e An, 2007; Oliveira et al., 2011). Algumas citocinas têm efeitos predominantemente anti-inflamatórios e imunossupressores (IL-10 e TGF- β) ou ambos os efeitos pró e anti-inflamatórios (IL-6) (Seruga et al., 2008).

No microambiente do tumor existem citocinas e outros mediadores inflamatórios que influenciam a imunossupressão, crescimento de células cancerígenas, remodelamento e angiogênese (Seruga et al., 2008). Assim, supõe-se que as alterações das citocinas nas vias regulatórias imunológicas, inflamatórias e angiogênicas no microambiente do CCP desempenham um papel crítico na agressividade do tumor, na resposta à quimioterapia e

radioterapia, bem como no desenvolvimento de mecanismos de escape imunológico (Pries et al., 2006).

Além do envolvimento no CCP, as citocinas também são alvos de investigação como marcadores de risco cardiovascular. Uma ampla gama de doenças cardíacas tem sido associada à inflamação e a modulação de citocinas, incluindo a aterosclerose associada com a doença arterial coronariana, miocardite e ICC (Mehra et al., 2005). No contexto da aterosclerose, as citocinas podem ser classificadas como pró ou anti-aterogênicas, dependendo de seus efeitos na formação e progressão da placa aterosclerótica (Figura 4).

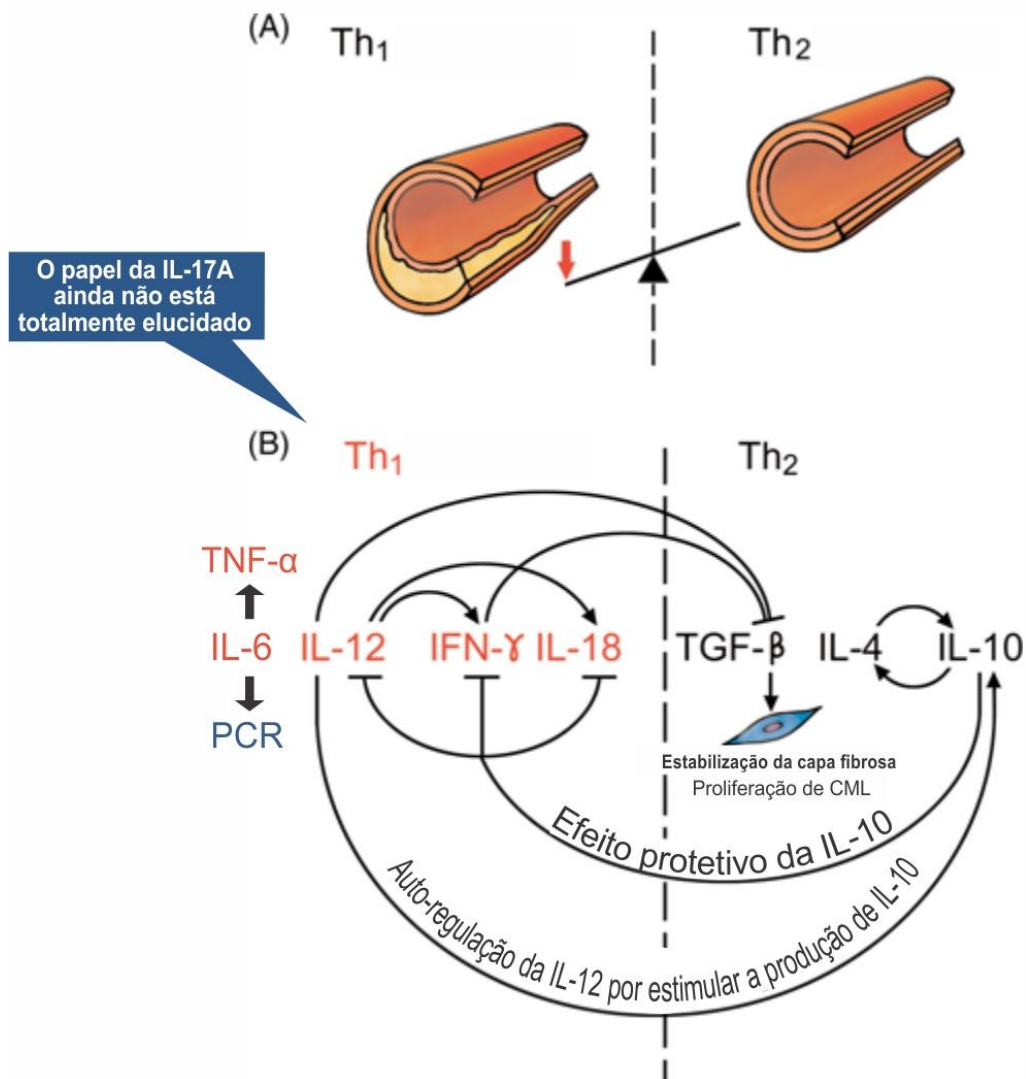


Figura 4. Citocinas pró (Th₁) e anti-aterogênicas (Th₂). (A) A mudança de equilíbrio em favor das respostas de Th₁ promove a progressão da placa aterosclerótica na parede do vaso. (B) Representação das interações de feedback negativo e positivo entre as citocinas Th₁ e Th₂. A IL-10 é a citocina anti-inflamatória dominante que impede a expressão de IL-12, IFN- γ e IL-18. A IL-12 aumenta a produção de IFN- γ , IL-18 e inibe a produção de TGF- β , contribuindo para a instabilidade da placa e a degradação da capa fibrosa. Ao promover mecanismos pró-aterogênicos, a IL-12 também regula as respostas aterogênicas, aumentando a produção de IL-10. (Adaptado de Girn et al., 2007 e Tousoulis et al., 2016)

As citocinas estão intimamente associadas à aterogênese e modulam a morfologia e a estabilização das placas. A placa ateromatosa consiste em um núcleo lipídico coberto por uma capa fibrótica na superfície luminal. A integridade da capa fibrosa depende do equilíbrio entre a proliferação e a

migração das células musculares lisas (CML) e a degradação da matriz extracelular pelas metaloproteinases de matriz extracelular (MMPs). O equilíbrio local entre as citocinas pró e anti-inflamatórias é fundamental para determinar a estrutura da capa fibrosa e a degradação das CML, influenciando a estabilidade da placa (Girn et al., 2007).

Assim como a interleucina-6 (IL-6), o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), o interferon gama- γ (INF- γ) que são citocinas pró-inflamatórias e são consideradas aterogênicas, as citocinas anti-inflamatórias como a interleucina-4 (IL-4) e interleucina-10 (IL-10) são consideradas anti-aterogênicas (Girn et al., 2007; Kleemann et al., 2008; Galkina e Ley, 2009).

A IL-6 é mediadora central da resposta de fase aguda e a principal citocina pró-coagulante, pois determina a produção e a elevação das concentrações plasmáticas estimuladas pelo fígado de fibrinogênio, proteína amilóide sérica A e, em especial, da PCR e do TNF- α (Willerson e Ridker, 2004; Girn et al., 2007). Estudos clínicos revelaram que os níveis séricos de IL-6 estão aumentados em pacientes com angina instável e hipertensão, sendo considerado um fator de risco independente para eventos cardiovasculares (Biasucci et al., 1999; Naya et al., 2007).

O TNF- α possui atividade biológica pleiotrópica e tem um papel importante na aterosclerose e outras desordens metabólicas e inflamatórias como obesidade e resistência à insulina, as quais são fatores de risco para as doenças cardiovasculares. Seu envolvimento na patogênese da aterosclerose é fundamentado por sua presença nas placas ateroscleróticas (Kleemann et al., 2008). Além disso, foi demonstrado que o TNF- α promove a interação entre os leucócitos circulantes e o endotélio por meio da regulação positiva de moléculas de adesão, como a molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM-1) (Mackesy e Goalstone, 2014).

Similarmente, o INF- γ também induz a expressão de moléculas de adesão intracelular 1 (ICAM-1), VCAM-1 e selectinas por células endoteliais e

musculares lisas, além de promover a adesão leucocitária na lesão vascular (Chung et al., 2002).

Em contraste aos efeitos das citocinas mencionadas acima, a IL-10 e IL-4 podem desempenhar um papel protetor na aterosclerose. A IL-10 tem importante função na regulação das citocinas pró e anti-inflamatórias (Galkina e Ley, 2009), parece inibir de uma maneira continuada a produção das citocinas pró-inflamatórias por meio de feedback negativo e exerce seu efeito anti-inflamatório no sistema vascular pela inibição das interações celulares e leucocitárias e inibição da produção de quimiocinas por macrófagos ou linfócitos (Choi et al., 2007). Apesar da IL-4 inibir a proliferação de células musculares lisas e a adesão de macrófagos, ela foi reportada em altos níveis na síndrome coronariana, portanto, ainda não se tem um consenso se a IL-4 parece ter efeitos pró-aterogênicos ou protetores (Girn et al., 2007).

Além disso, novas células T denominadas Th17 (linfócito T auxiliar 17), caracterizadas pela produção de IL-17A, foram identificadas com um importante papel nas respostas inflamatórias (Aggarwal e Gurney, 2002). A IL-17A induz o recrutamento de células imunes para os tecidos periféricos e leva à indução de muitos fatores pró-inflamatórios, incluindo o TNF- α , IL-6 e IL-1 β , sugerindo um importante papel da IL-17A na amplificação da inflamação (Lin e Karin, 2007) e, também, na formação da placa aterosclerótica (Erbel et al., 2014).

Estudos comprovaram a presença da IL-17A em lesões ateroscleróticas em ratos (Erbel et al., 2009; Smith et al., 2010; Gao et al., 2010) e em humanos (Chen et al., 2008; Eid et al., 2009; Erbel et al., 2011; Wang et al., 2011; Zhao et al., 2011; Gistera et al., 2013), no entanto, o mecanismo exato pelo qual a IL-17A atua no processo aterosclerótico permanece desconhecido devido a resultados contraditórios (Taleb et al., 2009; Danzaki et al., 2012) que demonstraram um efeito protetor da IL-17A na formação da placa aterosclerótica em ratos. Porém, ainda não há estudos clínicos com essa citocina em pacientes com câncer e com risco cardiovascular.

Mediante o exposto, hipotetizamos que esses marcadores, além de estarem envolvidos na inflamação e no risco cardiovascular podem estar relacionados ao prognóstico do câncer. Dessa forma, a quantificação e identificação desses marcadores antes e depois da terapêutica oncológica, podem ser preditores de danos, e assim, podem direcionar as terapias para uma melhor sobrevida e qualidade de vida dos pacientes com CCP.

Portanto, o envolvimento das citocinas, dos marcadores de lesão cardíaca e das proteínas de fase aguda da inflamação no câncer e nas DCVs levam a considerá-las como possíveis biomarcadores para investigar o prognóstico e as possíveis alterações promovidas pela terapêutica oncológica ao sistema cardiovascular dos pacientes com CCP.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o valor prognóstico dos marcadores de lesão cardíaca e das citocinas no risco cardiovascular associado à terapêutica oncológica no carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o perfil clínico-patológico da população estudada;
- Determinar o nível plasmático da PCR, NT-proBNP, troponina T e citocinas (IL-17A, INF- γ , TNF- α , IL-10, IL-6, IL-4) antes da terapêutica oncológica e associar com as características clínico-patológicas;
- Avaliar o valor preditivo da PCR, NT-proBNP, troponina T e citocinas (IL-17A, INF- γ , TNF- α , IL-10, IL-6, IL-4) na sobrevida em três anos;
- Determinar o nível plasmático da PCR, NT-proBNP, troponina T e citocinas (IL-17A, INF- γ , TNF- α , IL-10, IL-6, IL-4) antes e após a terapêutica oncológica e correlacionar com os tipos de tratamentos.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo prospectivo nos pacientes com câncer de cabeça e pescoço atendidos durante o período de 2012 a 2015 no ambulatório do Hospital Santa Rita de Cássia, Vitória. Este estudo foi desenvolvido sob aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Espírito Santo – CEP/UFES (nº 99.242/2012) (Anexo 1) e o consentimento informado (Anexo 2) foi obtido de acordo com o Conselho Nacional de Saúde nº196, de 10 de outubro de 1996.

3.2 GRUPO DE ESTUDO

Foram incluídos 118 pacientes com diagnóstico confirmado por exame histopatológico de carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço; que não tinham iniciado nenhum tratamento antineoplásico e com idade mínima de 18 anos. Esses pacientes foram avaliados antes e após a terapêutica oncológica (entre 6 a 18 meses) que incluiu cirurgia, radioterapia e/ou quimioterapia. Foram obtidos os dados clínico-epidemiológicos como estadiamento do tumor segundo o sistema TNM (tamanho do tumor primário, envolvimento regional de linfonodo, presença de metástase) para a classificação dos tumores malignos (Edge e Compton, 2010), localização do tumor, história do consumo de álcool e uso do tabaco, gênero, idade, medidas antropométricas e a pressão arterial sistólica e diastólica. No serviço onde o projeto foi realizado, após a confirmação do diagnóstico de carcinoma de células escamosas, os pacientes foram encaminhados para o tratamento do câncer (cirurgia, radioterapia ou quimioterapia). Assim, foi realizada a coleta de sangue antes e após esse tratamento e o acompanhamento do desfecho clínico (óbito) após 3 anos do diagnóstico. Foram excluídos: os casos de carcinoma de células escamosas recidivante, os que haviam iniciado a terapia antineoplásica e os que apresentaram condições sistêmicas debilitantes.

3.3 AFERIÇÃO DA PRESSÃO

A medida da Pressão Arterial pressão arterial sistólica (PAS) e a pressão arterial diastólica (PAD) foram medidas antes do tratamento em cada paciente. A pressão foi medida por meio do aparelho de pressão arterial automático Omron HEM 7200 (Omron Saúde, INC, Illinois, EUA). O manguito foi adequado ao braço do paciente, sem deixar folgas, colocado 2 a 3 cm acima da fossa cubital. Antes da tomada das medidas, os indivíduos permaneceram sentados e em repouso por cerca de 15 minutos. A PAS e PAD foram estratificadas de acordo com a 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial (Malachias et al., 2016).

3.4 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

Foi utilizado o estadiômetro (Balma® com precisão de 1mm) para medir a estatura dos pacientes antes do início do tratamento. Os mesmos foram orientados a permanecer em posição ereta, com os braços estendidos ao longo do corpo e olhar fixo em um ponto no horizonte. Logo após, os pacientes foram pesados em balança eletrônica da marca Toledo do Brasil®, com capacidade para 150kg e precisão de 0,1kg. O IMC (índice de massa corporal) foi calculado ($IMC = \text{peso} / \text{altura}^2$) e estratificado como recomendado pela OMS (WHO, 2000).

3.5 COLETA DE SANGUE PERIFÉRICO

Foram coletados 10 mL de sangue periférico em tubos com anticoagulante EDTA. A primeira amostra foi coletada no momento do diagnóstico do paciente e a segunda após 6 a 18 meses do diagnóstico do câncer. Após a coleta, o sangue foi centrifugado a 1.000 g, 4 °C por 15 minutos. O plasma foi coletado e armazenado a -80 °C para posterior análise.

3.6 DOSAGEM DA PCR, NT-proBNP e cTnT-us

A determinação quantitativa da concentração plasmática dos marcadores PCR, NT-proBNP e cTnT-ultra sensível (us) foram realizados em parceria com o Laboratório do Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes (HUCAM) no analisador automático COBAS® 6000 (Roche Diagnostics). A dosagem da PCR foi realizada por meio da técnica de imunoensaio turbidimétrico utilizando o kit CRPL3® (C-Reactive Protein Gen.3, Roche Diagnostics). O método se baseia na agregação de partículas sintéticas revestidas com anticorpo contra PCR na presença da mesma na amostra. O aumento de turvação que acompanha a agregação é proporcional à concentração da PCR. A partir do valor de referência (5 mg/L) os pacientes foram divididos em 2 grupos: < 5 mg/L e ≥ 5 mg/L.

O NT-proBNP e a cTnT-us foram determinados pela técnica de eletroquimioluminescência utilizando os kits comerciais proBNP II® e Troponin T hs® (Roche Diagnostics). Os pacientes foram divididos de acordo com o valor de referência para o NT-proBNP (< 125 pg/ml e ≥ 125 pg/ml) e para a cTnT us foi utilizada a mediana como valor de corte (< 7,6 pg/ml e ≥ 7,6 pg/ml).

3.7 DOSAGEM DE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS

As citocinas IL-6, TNF- α , INF- γ , IL-4, IL-10, IL-17A foram medidas pelo kit CBA (Cytometryc Bead Array - Human Th1/Th2/Th17) da BD Biosciences. O princípio do método de dosagem com o kit CBA consiste na ligação de anticorpos com as citocinas de interesse. O kit oferece seis grupos de microesferas, apresentando intensidades de fluorescência diferentes, revestidas com anticorpos específicos para cada tipo de citocina, denominadas “esferas de captura”. Para as dosagens, as esferas de captura específicas para cada citocina, foram agrupadas e posteriormente misturadas com 25 μ L de cada amostra a fim de permitir a ligação das esferas de captura com as possíveis citocinas presentes na amostra. Em seguida, foram adicionados a essa mistura anticorpos monoclonais anti-citocinas humanas, conjugados com

o fluorocromo ficoeritrina (PE). Após esta etapa (de marcação), a fluorescência de um total de 5000 microesferas por amostra foi lida em citômetro de fluxo FACSCanto II (BD), com base em gráficos de tamanho (FSC) versus granulosidade (SSC). As populações das microesferas foram detectadas de acordo com suas respectivas intensidades de fluorescência, se distribuindo ao longo de eixo Y (detector de fluorescência 4, PE, o qual capta luz no comprimento de onda ~650 nm, correspondente a cor vermelha). O mesmo procedimento foi realizado previamente para a construção de uma curva padrão com concentrações de 20 a 5000 pg/ml, e empregada para determinar as concentrações de cada citocina na amostra em análise. O valor da mediana de cada citocina foi utilizada como valor de corte em pg/mL.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram armazenados e analisados utilizando o programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, EUA) versão 20.0 e para a construção dos gráficos utilizou-se o software Prisma versão 5. As análises descritivas foram apresentadas como média \pm DP e frequência. A distribuição da amostra foi determinada utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov. A comparação dos níveis dos biomarcadores com os dados clínico-patológicos foi realizada pelo teste de Mann-Whitney ou Kruskal Wallis, as variáveis qualitativas foram analisadas pelo teste do qui-quadrado e a comparação entre as amostras pareadas foi realizada pelo teste de Wilcoxon. A análise de regressão de Cox univariada e multivariada foi utilizada para avaliar a associação entre o óbito e os potenciais fatores independentes.

As variáveis analisadas na regressão de Cox univariada foram: idade, sexo, IMC (kg/m^2), tabagismo, etilismo, PAS, classificação TNM, tratamento, localização do tumor primário e os biomarcadores. As variáveis significativas foram inseridas no modelo de regressão de Cox multivariado para determinar a contribuição individual das co-variáveis em relação à sobrevida. A *Hazard ratio* (HR) e o intervalo de confiança a 95% (IC 95%) foram estimados na análise de regressão de Cox.

O estudo da sobrevida global (SG) em três anos foi realizado por meio da análise de Kaplan-Meier e o teste de Log-Rank para comparação das curvas geradas. Para a construção das curvas de SG foi considerada a data do diagnóstico clínico até a ocorrência do desfecho clínico (óbito) ou última data do acompanhamento. A correlação de Spearman foi utilizada para determinar a relação entre os biomarcadores antes e após os tratamentos. O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

4. RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA ESTUDADA

As características do grupo estudado estão representados na tabela 1. Foi observado que a maioria dos pacientes eram: tabagistas, etilistas e encontravam-se em estágio avançado da doença. A média de idade foi de 59,4 \pm 10,8 e a maioria dos pacientes eram do sexo masculino. Observamos que a cavidade oral foi a localização primária do tumor mais frequente na amostra analisada e a cirurgia e radioquimioterapia foram as modalidades de tratamento mais utilizadas.

Os pacientes com o tamanho do tumor (T) menor que 4 cm (T1 e T2) e estadiamento inicial (I e II) mostraram melhor taxa de sobrevida. Assim como o tratamento cirúrgico e a radioquimioterapia, que mostraram melhores resultados em relação ao óbito. O IMC médio dos pacientes com CCP está dentro da normalidade, porém os pacientes que sobreviveram tinham um IMC maior do que os que vieram a óbito ($P = 0,03$).

Tabela 1: Características da amostra estudada (n = 118).

	N Total (%)	Sobrevida em 36 meses		Valor de p [†]
		Vivo (%)	Morto(%)	
Idade (anos)				
Abaixo de 60	66 (55,9)	44 (66,7)	22 (33,3)	0,60
Acima de 60	52 (44,1)	37 (71,2)	15 (28,8)	
Sexo				
Masculino	98 (83,1)	68 (69,4)	30 (30,6)	0,70
Feminino	20 (16,9)	13 (65)	7 (35)	
Tabagista				
Sim	66(55,9)	41 (62,1)	25 (37,9)	0,21
Não	16(13,5)	11 (68,8)	5 (31,2)	
Ex-tabagista	34(28,8)	27 (79,4)	7 (20,6)	
Desconhecido	2(1,7)			
Etilista				
Sim	53 (44,9)	34 (64,2)	19 (35,8)	0,58
Não	11 (9,3)	7 (63,6)	4 (36,4)	
Ex-etilista	52 (44)	38 (73,1)	14 (26,9)	
Desconhecido	2 (1,7)			
Sítio do tumor				
Cavidade oral	67 (56,8)	48 (71,6)	19 (28,4)	0,54
Orofaringe	37 (31,4)	25 (67,6)	12 (32,4)	
Hipofaringe	3 (2,5)	1 (33,3)	2 (66,7)	
Laringe	11 (9,3)	7 (63,6)	4 (36,4)	
Estadiamento				
I/II	52 (44,1)	41 (78,8)	11 (21,2)	0,03*
III/IV	66 (55,9)	40 (60,6)	26 (39,4)	
T				
1/2	58 (49,1)	45 (77,6)	13 (22,4)	0,04*
3/4	60 (50,9)	36 (60)	24 (40)	
N				
0	79 (66,9)	56 (70,9)	23 (29,1)	0,45
+	39 (33,1)	25 (64,1)	14 (35,9)	
Modalidade terapêutica				
Cirurgia	29 (23,7)	28 (96,6)	1 (3,4)	0,007*
Radioterapia	9 (7,6)	5 (55,6)	4 (44,4)	
Cirurgia+radioterapia	9 (7,6)	6 (66,7)	3 (33,3)	
Cirurgia+radioquimioterapia	14(12,7)	8 (57,1)	6 (42,9)	
Radioquimioterapia	57 (48,4)	34 (59,6)	23 (40,4)	
IMC				
Média ± DP	23,88 ± 4,18	24,42 ± 3,7	22,78 ± 4,7	0,03*
PAS				
Média ± DP	142 ± 26	144 ± 27	137 ± 22	0,15
PAD				
Média ± DP	80 ± 12	81 ± 13	79 ± 12	0,5

IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão artéria sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

†Teste do qui-quadrado ou Teste de Mann Whitney. * P < 0,05

4.2 AVALIAÇÃO DOS BIOMARCADORES EM RELAÇÃO AS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS.

No resultado da avaliação das concentrações plasmáticas dos biomarcadores em relação as características clínico-patológicas (Tabela 2), a PCR estava maior no estágio avançado (III+IV) em relação ao estágio inicial (I+II) ($6,1 \pm 6,8$ mg/L vs $3,8 \pm 4,4$ mg/L, $P = 0,02$) e nos tumores maiores que 4 cm (T3+T4) em relação aos menores que 4 cm (T1+T2) ($6,4 \pm 7,1$ mg/L vs $3,7 \pm 4,3$; $P = 0,008$).

O NT-proBNP estava maior nos pacientes acima de 60 anos em relação a idade menor que 60 anos ($104,9 \pm 69,3$ pg/mL vs $96 \pm 123,4$ pg/mL; $P = 0,02$). A concentração do NT-proBNP também estava maior nos pacientes com PAS acima de 140 mmHg em relação aos pacientes com PAS abaixo de 139 mmHg ($108,3 \pm 79,8$ pg/mL vs $92,8 \pm 128,6$ pg/mL; $P = 0,009$).

A cTnT estava maior nos pacientes acima de 60 anos em relação aos menores que 60 anos ($9,3 \pm 3,7$ pg/mL vs $7,7 \pm 3,5$ pg/mL; $P = 0,03$) e em estágio inicial da doença em relação ao estágio avançado ($9,3 \pm 3,6$ pg/mL vs $7,6 \pm 3,4$ pg/mL; $P = 0,01$).

Em relação as citocinas, apenas o TNF- α estava maior nos pacientes tabagistas em relação aos não-tabagistas ($17,5 \pm 14,3$ pg/mL vs $4,3 \pm 1,3$ pg/mL; $P = 0,02$).

As demais análises não mostraram diferenças significativas e os valores obtidos estão demonstrados na tabela 2.

Tabela 2: Concentração dos biomarcadores e relação às características clínico-patológicas.

Características	PCR (mg/L)			NT-proBNP (pg/mL)			n	cTnT (pg/mL)			n	IL-17A (pg/mL)	
	n	Média ± DP	P	n	Média ± DP	P	n	Média ± DP	P	n	Média±DP	P	
Idade (anos)													
< 60	60	5,9 ± 7,0	0,15	46	96 ± 123,4	0,02*	52	7,7 ± 3,5	0,03*	54	115,7 ± 57,2	0,87	
≥ 60	44	3,8 ± 3,9		34	104,9 ± 69,3		36	9,3 ± 3,7		47	107,7 ± 44,7		
Sexo													
Masculino	84	5,3 ± 6,3	0,35	65	103,6 ± 111,6	0,91	73	8,7 ± 3,5	0,09	81	113,8 ± 51,3	0,51	
Feminino	20	3,9 ± 4,1		15	83,7 ± 56,1		15	7,0 ± 3,8		20	104,6 ± 53,7		
Tabagista													
Sim	56	5,6 ± 5,6	0,27	47	115,8 ± 125,3	0,06	51	8,3 ± 3,8	0,68	55	112,4 ± 53,9	0,83	
Não	16	3,7 ± 3,6		10	112,3 ± 61		9	8,1 ± 3,9		15	106,4 ± 53,2		
Ex-tabagista	30	4,8 ± 7,5		21	63,6 ± 45		26	8,7 ± 3,1		29	115,1 ± 49,7		
Etilista													
Sim	46	6,0 ± 6,2	0,24	34	127 ± 144,3	0,80	38	8,5 ± 3,5	0,19	44	109,1 ± 49,2	0,84	
Não	11	4,1 ± 3,9		7	76 ± 41,1		6	5,9 ± 3,3		10	110,5 ± 55,7		
Ex-etilista	45	4,4 ± 6,2		37	82,5 ± 52,6		42	8,7 ± 3,7		45	115,8 ± 55,1		
Sítio do tumor													
Cavidade oral	60	5,2 ± 6,2	0,88	44	104,3 ± 106,4	0,45	49	8,8 ± 3,6	0,31	59	114,5 ± 52,3	0,53	
Orofaringe	32	4 ± 3,9		24	98,7 ±103,3		28	7,6 ± 3,6		32	102,7 ± 46,1		
Hipofaringe	3	9,9 ± 9,5		3	54,9 ± 31,8		3	9,1 ± 4,4		2	189,6 ±138,5		
Laringe	9	6,4 ± 8,5		9	95,6 ± 113,9		8	8,3 ± 3,7		8	111,2 ± 33,3		
Estadiamento													
I + II	49	3,8 ± 4,4	0,02*	35	96,9 ± 78,3	0,673	40	9,3 ± 3,6	0,01*	43	106,3 ± 42,3	0,95	
III + IV	55	6,1 ± 6,8		45	102,1 ± 120,3		48	7,6 ± 3,4		58	116,2 ± 57,6		

Características	PCR (mg/L)			NT-proBNP (pg/mL)			n	cTnT (pg/mL)			n	IL-17A (pg/mL)	
	n	Média ± DP	P	n	Média ± DP	P	n	Média ± DP	P	n	Média±DP	P	
T													
1/2	54	3,7 ± 4,3	0,008*	39	91,2 ± 76,3	0,69	44	8,9 ± 3,7	0,17	48	107,5 ± 44	0,93	
3/4	50	6,4 ± 7,1		41	108 ± 124,3		44	7,8 ± 3,4		53	116,1 ± 57,8		
N													
0	71	4,5 ± 5,3	0,23	53	98,7 ± 72,9	0,15	57	8,8 ± 3,5	0,05	67	115,6 ± 53,1	0,20	
+	33	6,1 ± 7,2		27	102,2 ± 147,8		31	7,6 ± 3,6		34	104,8 ± 48,7		
Tratamento													
Cirurgia (C)	28	3,9 ± 3,6	0,12	19	92,3 ± 59,8	0,925	22	8,9 ± 3,7	0,06	25	114,7 ± 31,9	0,38	
Radioterapia (RT)	6	1,7 ± 1,1		6	132,1 ± 132,3		9	10,2 ± 4		9	118,6 ± 66,3		
Cirurgia+ RT	7	3,3 ± 4,6		5	79,7 ± 40,9		5	11 ± 3,9		5	81,6 ± 24,2		
C + RT + QT	13	7,6 ± 7,7		11	163,3 ± 219,7		10	7,8 ± 3,6		13	95,5 ± 50,5		
RT + QT	50	5,6 ± 5,9		39	83,2 ± 60,6		42	7,5 ± 3,2		49	116,9 ± 58,5		
IMC													
< 18,5	7	1,9 ± 1,1	0,10	8	135 ± 109,4	0,357	8	6,7 ± 2,1	0,232	9	114,6 ± 42,9	0,92	
18,5 – 25	57	4,8 ± 5,3		40	95,5 ± 110,4		43	8,3 ± 3,7		51	110,7 ± 54,5		
≥ 25	38	6,1 ± 7,3		30	100,1 ± 96,1		35	9,04 ± 3,7		39	113,8 ± 52		
PAS													
≤ 139	50	5,7 ± 6,1	0,26	35	92,8 ± 128,6	0,009*	40	7,6 ± 3,1	0,06	49	123,5 ± 57,7	0,08	
≥ 140	50	4,5 ± 6,0		41	108,3 ± 79,8		44	9,3 ± 3,9		48	101,1 ± 44,6		
PAD													
≤ 89	75	4,8 ±5,0	0,87	60	94,8 ± 102,8	0,21	64	8,4 ± 3,6	0,61	74	115,4 ± 54,7	0,29	
≥ 90	25	5,7 ± 8,4		16	125,1 ± 111,5		20	8,8 ± 3,8		23	102,8 ± 45,2		

IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão artéria sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

Tabela 2: Concentração dos biomarcadores e relação às características clínico-patológicas. (CONTINUAÇÃO)

Características	INF-γ (pg/mL)			TNF-α (pg/mL)			IL-10 (pg/mL)			n	IL-6 (pg/mL)			n	IL-4 (pg/mL)		
	n	Média±DP	P	n	Média±DP	P	n	Média±DP	P	n	Média±DP	P	n	Média±DP	P		
Idade (anos)																	
< 60	22	34,1 ± 42,2	0,46	23	17,3 ± 14,4	0,16	60	3,8 ± 3,7	0,40	13	27,1 ± 12,8	0,101	57	7,3 ± 3,9	0,68		
≥ 60	23	26,9 ± 28,0		25	15,0 ± 18,6		48	4,3 ± 4,2		13	25,5 ± 21,1		50	7,6 ± 5,3			
Sexo																	
Masculino	37	33,0 ± 37,9	0,12	41	17,4 ± 17,2	0,09	89	4,2 ± 4,2	0,84	22	27,9 ± 18,1	0,38	88	7,8 ± 4,8	0,051		
Feminino	8	18,5 ±17,7		7	8,6 ± 10,2		19	3,4 ± 2,3		4	17,6 ± 5,5		19	5,8 ± 3,04			
Tabagista																	
Sim	25	33,7 ± 41,4	0,21	26	17,5 ± 14,3	0,02*†	61	3,9 ± 3,5	0,87	18	28,8 ± 18,8	0,418	59	7,7 ± 4,2	0,07		
Não	7	13,3 ± 3,8		6	4,3 ± 1,3		15	2,9 ± 1,4		3	16,4 ± 6,0		15	5,6 ± 2,6			
Ex-tabagista	13	33,4 ± 31		16	18,3 ± 21,4		30	4,8 ± 5,5		5	23,1 ± 13,9		31	8,2 ± 5,8			
Etilista																	
Sim	22	33,7 ± 43,0	0,54	21	15,1 ± 14,3	0,46	49	4,0 ± 3,5	0,19	14	28,6 ± 18	0,228	47	7,2 ± 3,2	0,53		
Não	5	15,5 ± 7,2		5	7,9 ± 7,1		11	3,2 ± 1,9		4	15,3 ± 5,4		11	6,8 ± 3,1			
Ex-etilista	18	30,6 ± 29,6		22	18,9 ± 19,6		46	4,4 ± 4,8		8	27,6 ± 18,6		47	8,02 ± 5,9			
Sítio do tumor																	
Cavidade oral	27	32,9 ± 41,8	0,88	25	16,4 ± 17,6	0,75	61	3,9 ± 3,4	0,63	15	25,2 ± 16,1	0,913	59	7,3 ± 4,9	0,64		
Orofaringe	13	28,1 ± 24,5		16	15,8 ± 15,9		36	3,9 ± 4,0		7	24,9 ± 15,8		35	7,2 ± 3,4			
Hipofaringe	2	14,8 ± 6,6		3	10,1 ± 11,0		1	-		1	25,4		3	8,2 ± 3,9			
Laringe	3	28,4 ± 29,7		4	19,8 ± 20,5		10	5,4 ± 6,5		3	35,2 ± 30,8		10	8,7 ± 6,2			
Estadiamento																	
I + II	21	32,9 ± 43,6	0,63	20	15,0 ± 16,2	0,92	46	3,7 ± 3,0	0,87	9	31,9 ± 23,4	0,874	46	7,2 ± 4,6	0,49		
III + IV	24	28,3 ± 27,2		28	16,9 ± 17,1		62	4,3 ± 4,5		17	23,3 ± 12,5		61	7,7 ± 4,6			

Características	INF-γ (pg/mL)			TNF-α (pg/mL)			IL-10 (pg/mL)			n	IL-6 (pg/mL)			n	IL-4 (pg/mL)		
	n	Média±DP	P	n	Média±DP	P	n	Média±DP	P	n	Média±DP	P	n	Média±DP	P		
T																	
1/2	24	34,3 ± 42,5	0,40	24	17,8 ± 17,8	0,35	52	4,1 ± 3,6	0,45	10	31,7 ± 22,1	0,897	52	7,5 ± 4,6	0,85		
3/4	21	26,1 ± 25,5		24	14,4 ± 15,4		56	4,02 ± 4,2		16	22,9 ± 12,7		55	7,4 ± 4,6			
N																	
0	31	34,5 ± 40,1	0,34	34	15,6 ± 16,1	0,88	73	4,2 ± 4,0	0,67	18	25,6 ± 17,6	0,367	71	7,6 ± 5,06	0,51		
+	14	21,5 ± 20,3		14	17,4 ± 18,1		35	3,8 ± 3,7		8	27,9 ± 16,9		36	7,2 ± 3,6			
Tratamento																	
Cirurgia	13	28,7 ± 30,6	0,59	13	14,7 ± 16,8	0,20	26	4,3 ± 3,7	0,69	6	27,4 ± 19,5	0,06	27	7,8 ± 5,7	0,28		
Radioterapia (RT)	3	22,5 ± 14		2	2,6 ± 0,5		8	2,4 ± 0,9		2	67,9 ± 3,5		9	5,5 ± 1,1			
Cirurgia+RT	3	41 ± 27,8		4	27,5 ± 24,5		7	7,3 ± 8,3		1	10,8		7	10,3 ± 8,9			
Cirurgia+RT+QT	5	60,5 ± 81,0		5	12,1 ± 7,7		14	3,3 ± 1,9		3	32,2 ± 16,6		13	5,9 ± 2,1			
RT+QT	21	23,9 ± 22,2		24	16,9 ± 16,8		53	3,9 ± 3,8		14	19,7 ± 5,7		51	7,6 ± 3,8			
IMC																	
< 18,5	1	27		4	8,8 ± 8,1	0,14	9	3,2 ± 2,0	0,79	3	35,2 ± 31,0	0,79	10	5,8 ± 2,8	0,41		
18,5 – 25	26	27,3 ± 27,7	0,58	23	20,5 ± 18,9		55	4,2 ± 4,1		13	26,0 ± 15,5		57	7,7 ± 4,9			
≥ 25	18	35,1 ± 45,6		21	12,7 ± 14,0		42	4,1 ± 4,1		10	23,9 ± 15,7		38	7,6 ± 4,5			
PAS																	
≤ 139	22	29,2 ± 26,9	0,83	22	16,2 ± 15,8	0,45	55	4,3 ± 4,4	0,82	14	26,3 ± 15,7	0,462	50	7,7 ± 4,6	0,68		
≥ 140	23	31,6 ± 42,6		26	16,0 ± 17,5		49	3,8 ± 3,4		12	26,2 ± 19,3		53	7,4 ± 4,7			
PAD																	
≤ 89	33	32,9 ± 40,1	0,75	37	15,5 ± 16,9	0,41	81	4,2 ± 4,1	0,95	19	27,5 ± 17,7	0,461	80	7,6 ± 4,9	0,60		
≥ 90	12	23,6 ± 16,9		11	18,2 ± 15,8		23	3,8 ± 3,5		7	22,8 ± 16,1		23	7,4 ± 3,7			

* P < 0,05. [†] Tabagista vs não tabagista

QT: Quimioterapia; IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão artéria sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

4.3 ANÁLISE DA SOBREVIDA GLOBAL EM RELAÇÃO AS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS E BIOMARCADORES.

Na avaliação da sobrevida global em 3 anos (Tabela 3) em relação as características clínico-patológicas, os pacientes em estádios iniciais (I+II) e com tumores T1+T2, tiveram melhores taxas de sobrevida (78,8% e 77,6%) em comparação aos pacientes com estágio avançado (III+IV) e tumores T3+T4 (60,6% e 60%), respectivamente. A modalidade terapêutica cirúrgica mostrou melhor taxa de sobrevida (96,6%) em comparação as demais (Radioterapia: 55,6%; Cirurgia + RT: 66,7%; Cirurgia + RT + QT: 57,1%; RT + QT: 59,6%). E, pacientes com IMC ≥ 25 kg/m² mostraram melhor taxa de sobrevida (77,8%) em relação as demais categorias (entre 18,5-25 kg/m²: 65,6%; < 18,5 kg/m²: 40%).

A análise de sobrevida global em 3 anos (Figura 5) mostrou que 31,4% (n = 37) dos pacientes evoluíram a óbito e a média de sobrevida foi de 30,6 meses (IC 95%: 28,8 - 32,5 meses). Analisando a figura 6, observamos que o tempo de sobrevida média foi maior nos pacientes com níveis de PCR menor que 5 mg/L (P = 0,035), com resultado de 31,8 meses (IC 95%: 28,6-33,9 meses), comparado com os pacientes com níveis de PCR acima de 5 mg/L, com resultado de 26,4 meses (IC 95%: 22,3-30,6 meses). A taxa de sobrevida para os pacientes com valores de PCR abaixo e acima de 5 mg/L foi de 72,6% e 51,6%, respectivamente. Na figura 7 observamos que os pacientes com valores de NT-proBNP menor que 125 pg/mL também tiveram melhor taxa de sobrevida em comparação aos pacientes com valores acima de 125 pg/mL (70,5% vs 47,4%; P = 0,028). Não houve diferença de sobrevida em relação aos demais biomarcadores (Figura 8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14).

Tabela 3: Análise da sobrevida global (3 anos) em relação as variáveis clínico-patológicas (n = 118).

Variável	Categoria	Sobrevida global (3 anos)		
		Sobrevida média (em meses)	IC 95%	P Log-Rank
Idade	< 60 anos	30,4	28,1-32,7	0,68
	Maior que 60	30,3	27,3-33,3	
Sexo	Masculino	30,9	28,9-32,9	0,60
	Feminino	28,8	23,5-34,1	
Localização do Tumor	Cavidade oral	31,3	28,8-33,7	0,49
	Orofaringe	29,9	26,6-33,3	
	Hipofaringe	23,1	9,9-36,3	
	Laringe	29,2	23,8-34,5	
Tamanho do Tumor (T)	T1 + T2	32,6	30,2-34,9	0,03*
	T3 + T4	22,1	25,5-31,1	
Metástase em linfonodos (N)	N0	31,1	29-33,3	0,31
	N+	29,2	25,6-32,8	
Estadiamento	I + II	32,7	30,3-35,1	0,02*
	III + IV	22,1	25,9-31,2	
Modalidade terapêutica	Cirurgia	36,1	34,3-37,8	0,008*
	Radioterapia	25,3	17,1-33,5	
	Cirurgia + RT	30,0	23,8-36,1	
	Cirurgia + RT + QT	27,7	22,2-33,1	
	RT + QT	28,7	25,9-31,5	
IMC (kg/m ²)	< 18,5	23,6	17,5-29,7	0,04*
	18,5 – 25	29,7	27-32,3	
	≥ 25	32,3	29,6-35,1	
PAS (mmHg)	≤ 139	28,9	26-31,6	0,193
	≥ 140	31,5	28,9-34	
PAD (mmHg)	≤ 89	29,5	27,1-31,8	0,252
	≥ 90	33,1	30,5-35,7	

RT: radioterapia; QT: quimioterapia; IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão artéria sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

*P < 0,05.

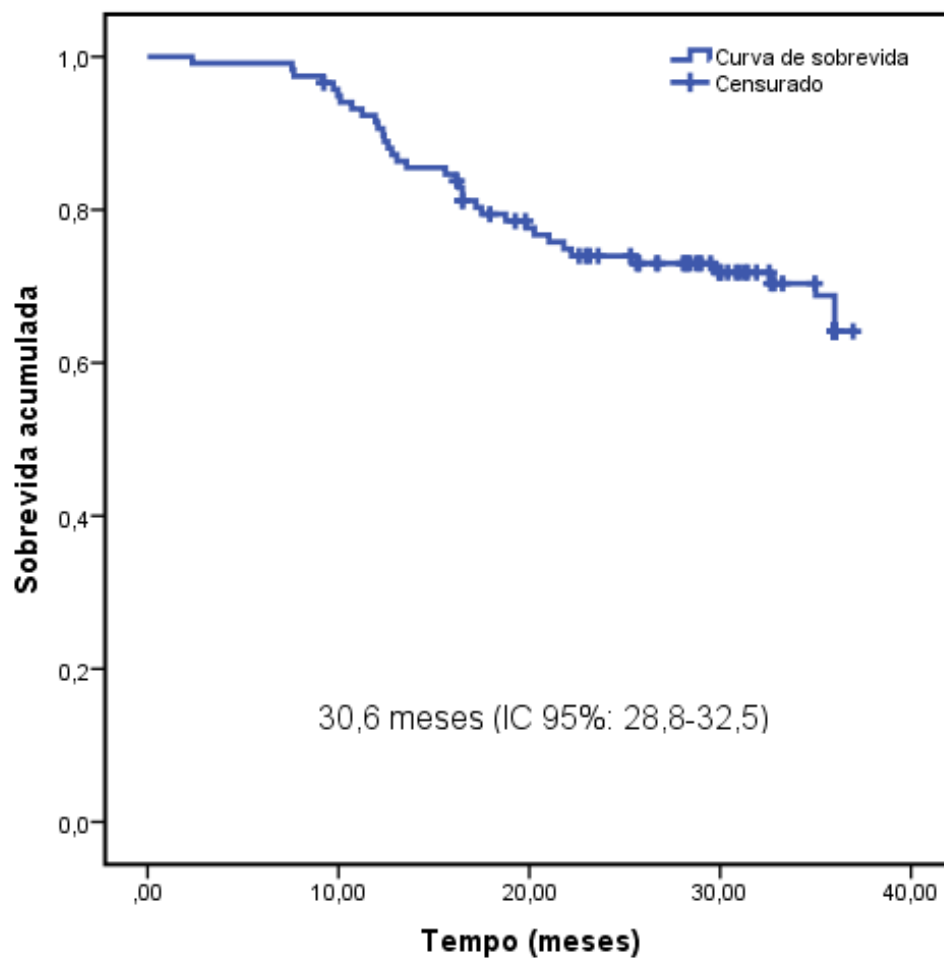


Figura 5. Curva de Kaplan-Meier demonstrando a sobrevida global em 3 anos de 68,6% dos pacientes com CCP (n = 118).

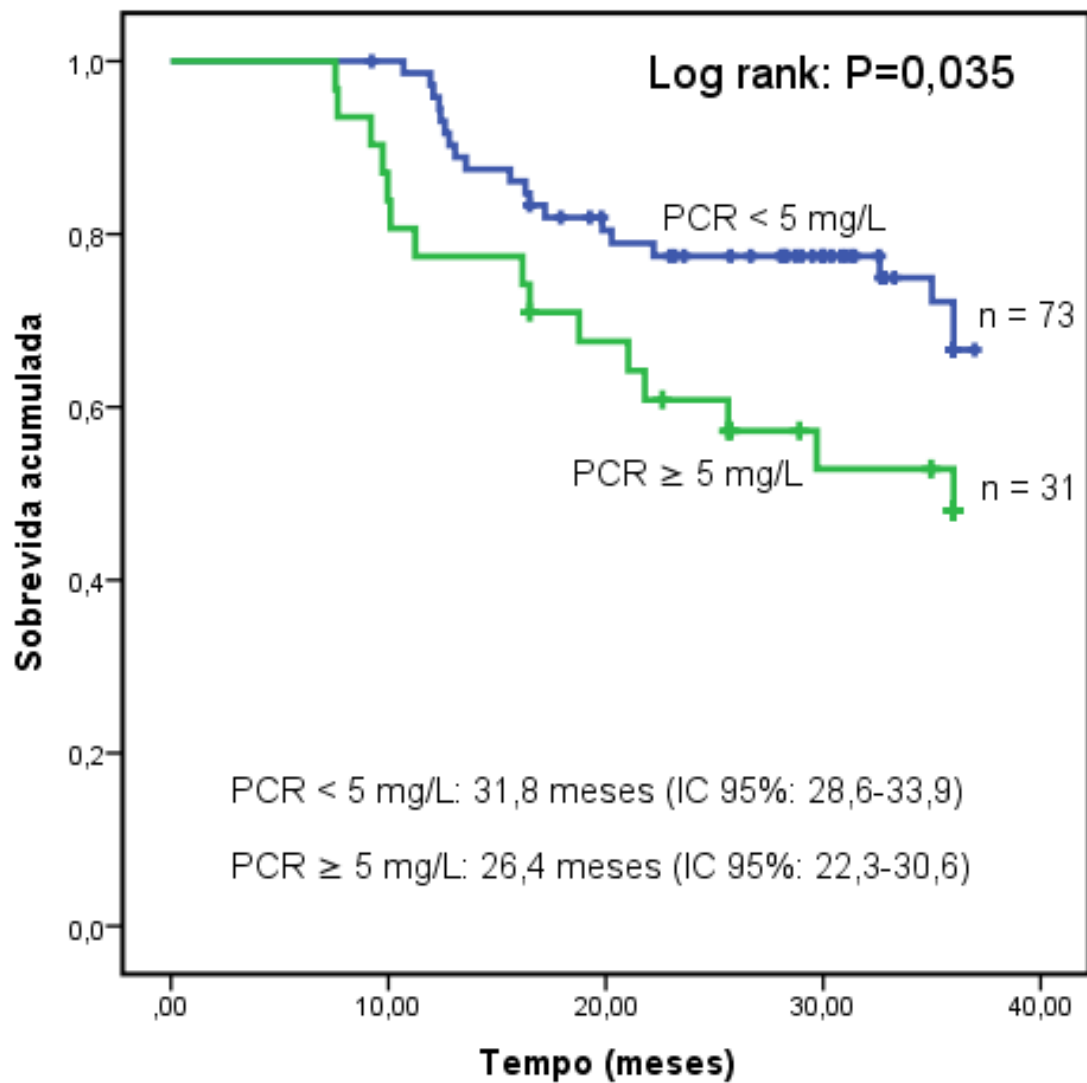


Figura 6. Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP ($n = 104$) em relação a Proteína C reativa (PCR). Curva de Kaplan-Meier.

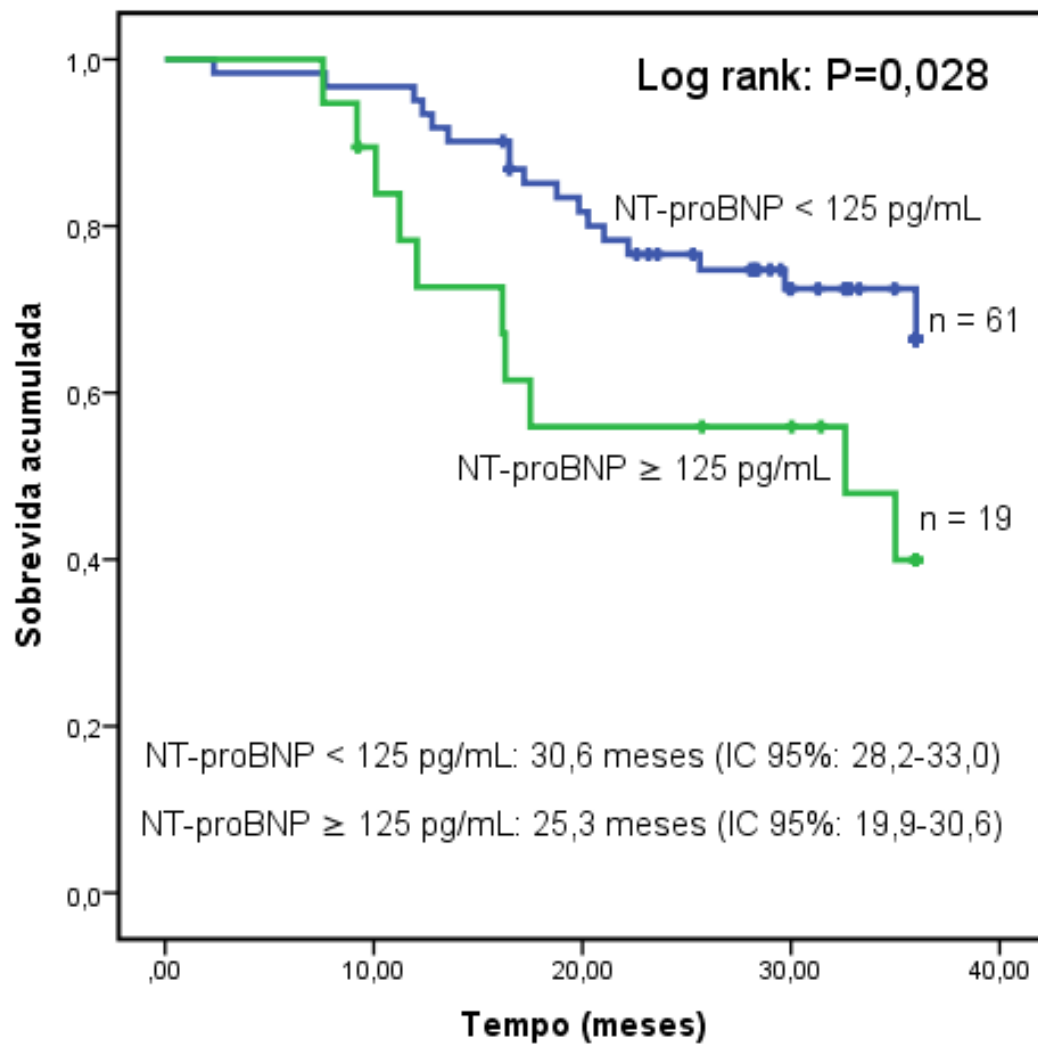


Figura 7. Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP (n = 80) em relação ao NT-proBNP. Curva de Kaplan-Meier.

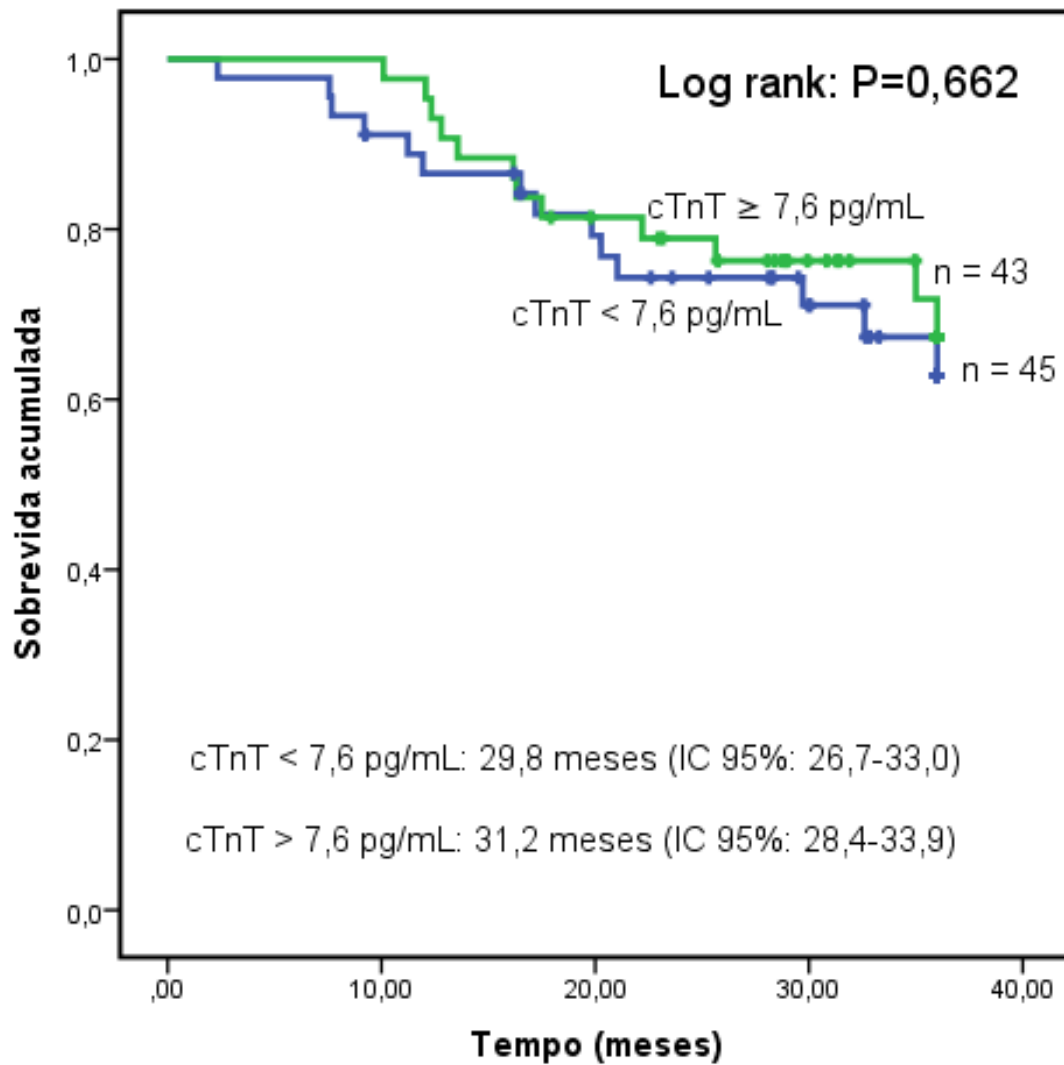


Figura 8. Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP (n = 88) em relação a troponina cardíaca T (cTnT). Curva de Kaplan-Meier.

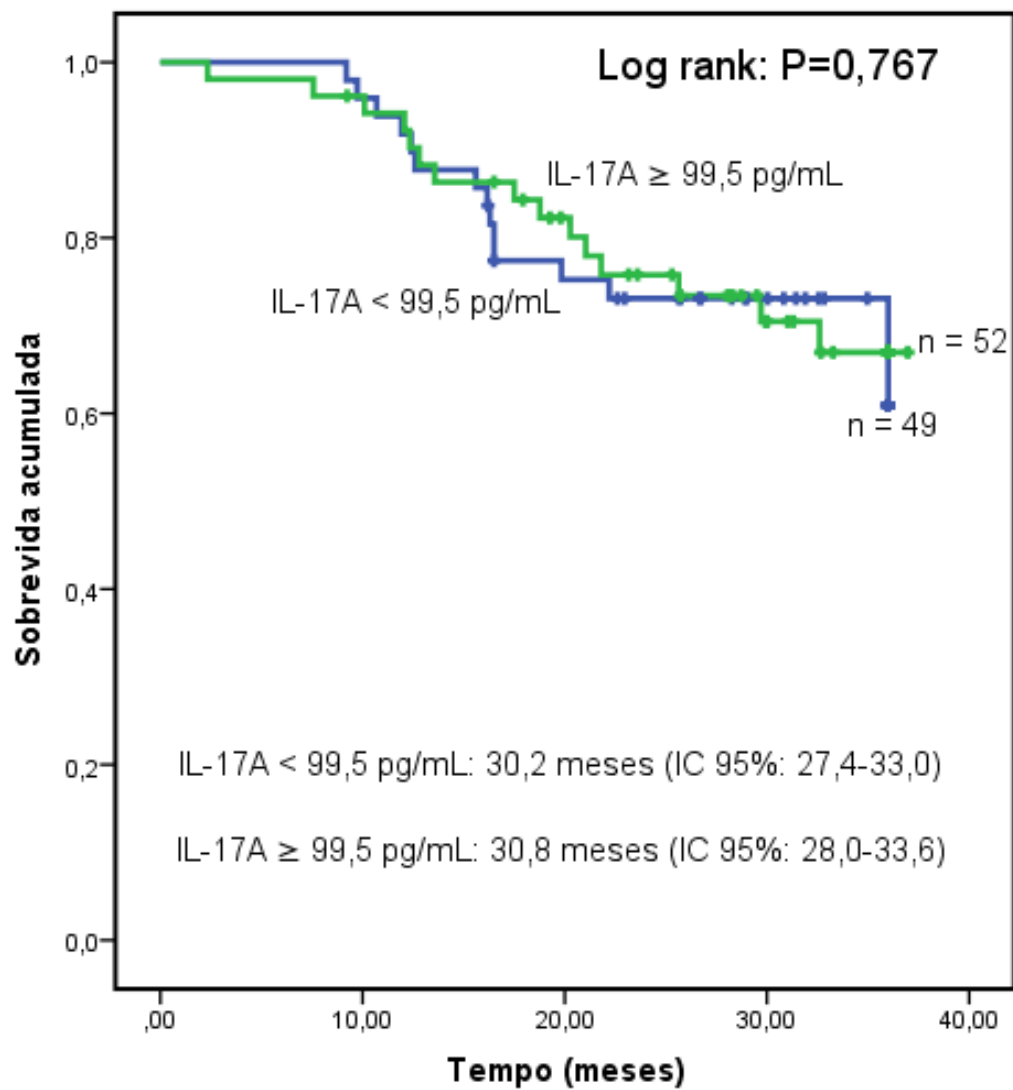


Figura 9. Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP (n = 101) em relação interleucina-17A (IL-17A). Curva de Kaplan-Meier.

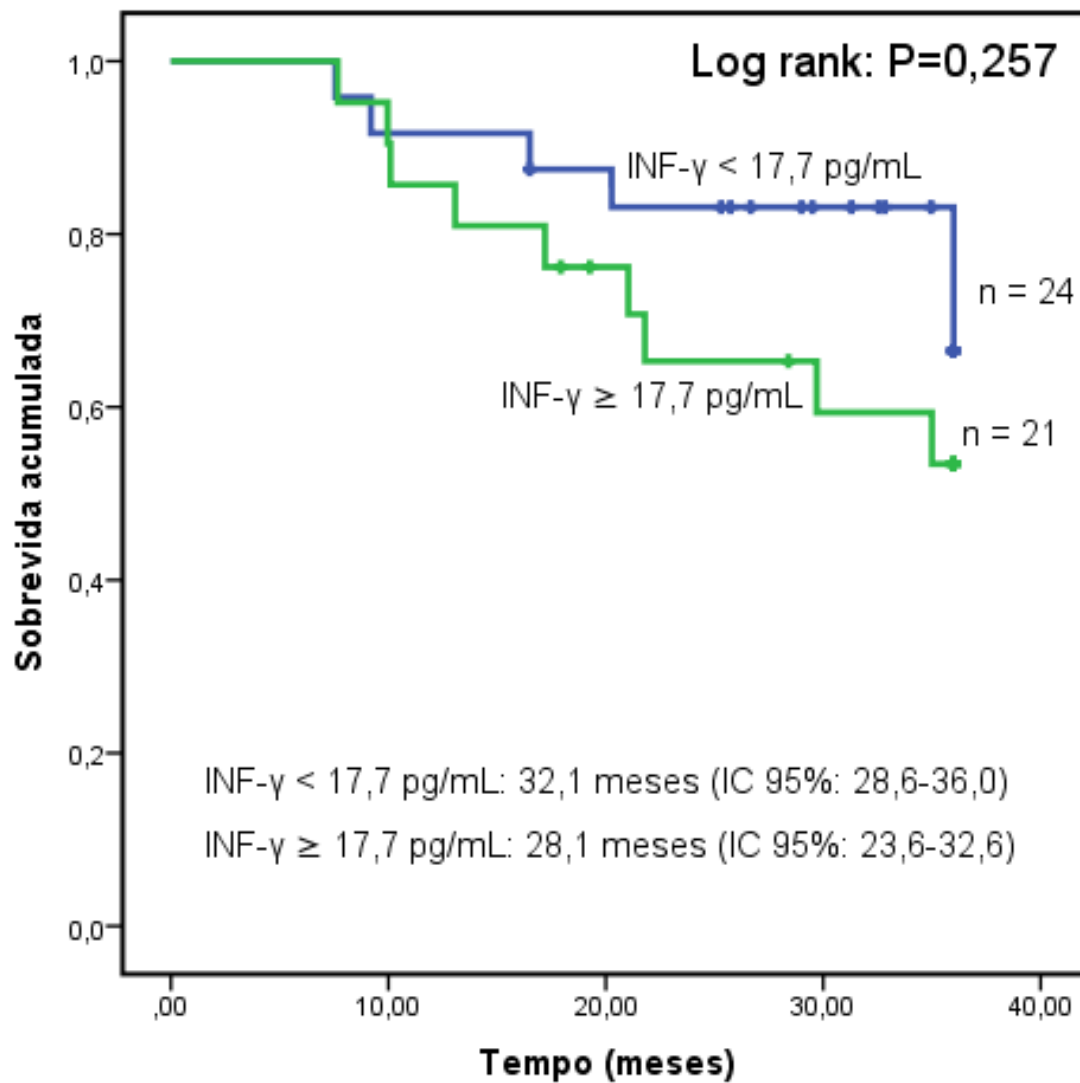


Figura 10. Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP ($n = 45$) em relação ao interferon- γ (INF- γ). Curva de Kaplan-Meier.

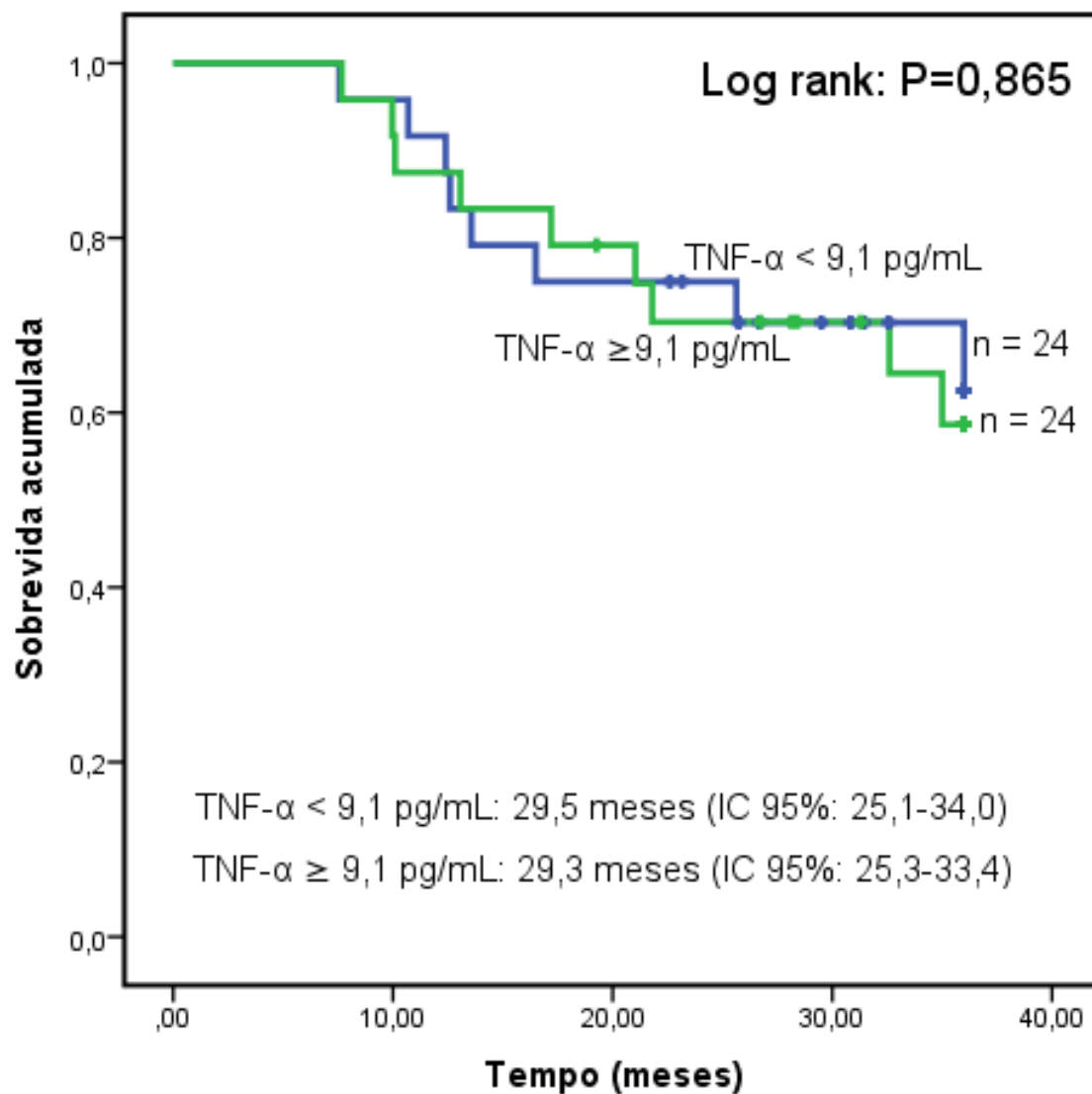


Figura 11. Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP ($n = 48$) em relação ao fator de necrose tumoral- α (TNF- α). Curva de Kaplan-Meier.

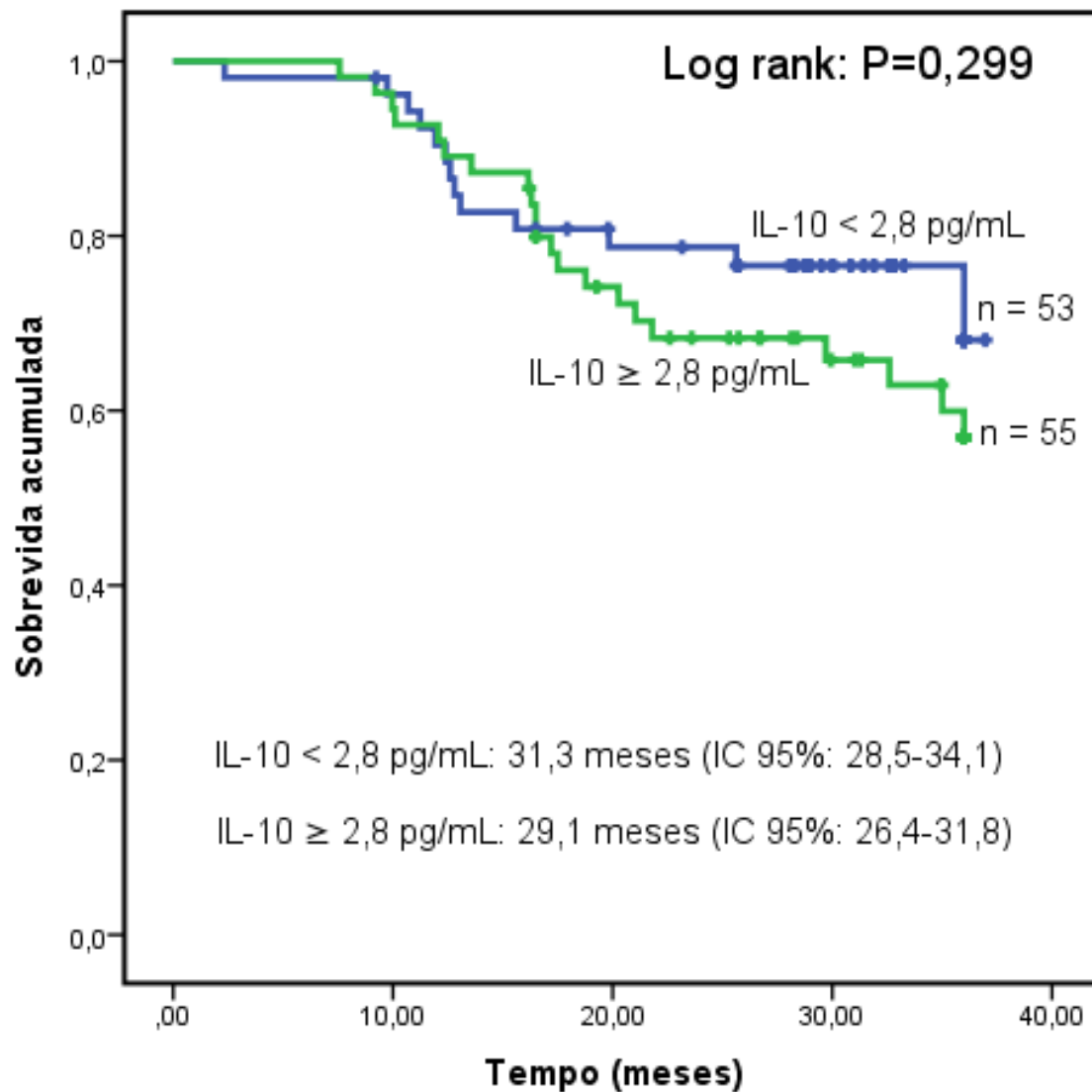


Figura 12. Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP (n = 108) em relação a interleucina-10 (IL-10). Curva de Kaplan-Meier.

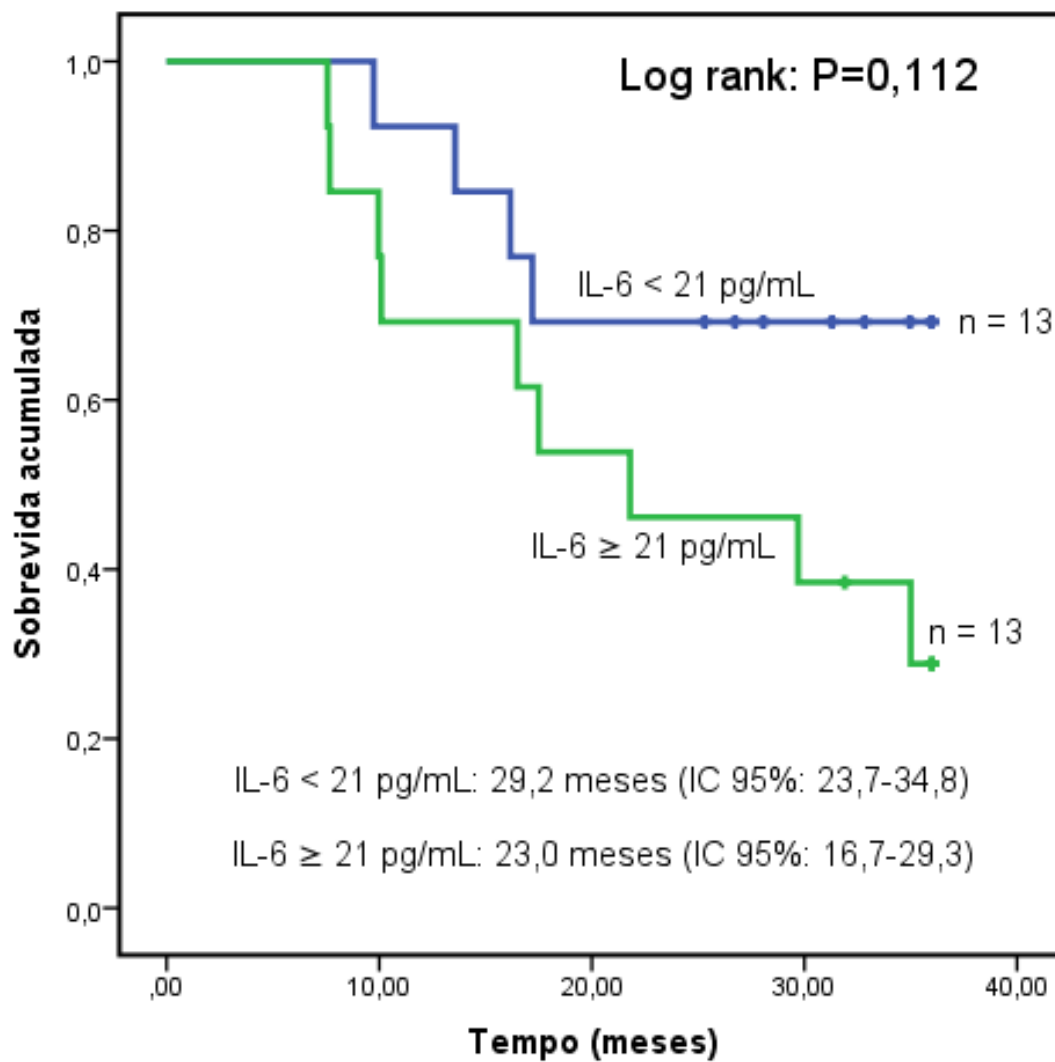


Figura 13. Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP ($n = 26$) em relação a interleucina-6 (IL-6). Curva de Kaplan-Meier.

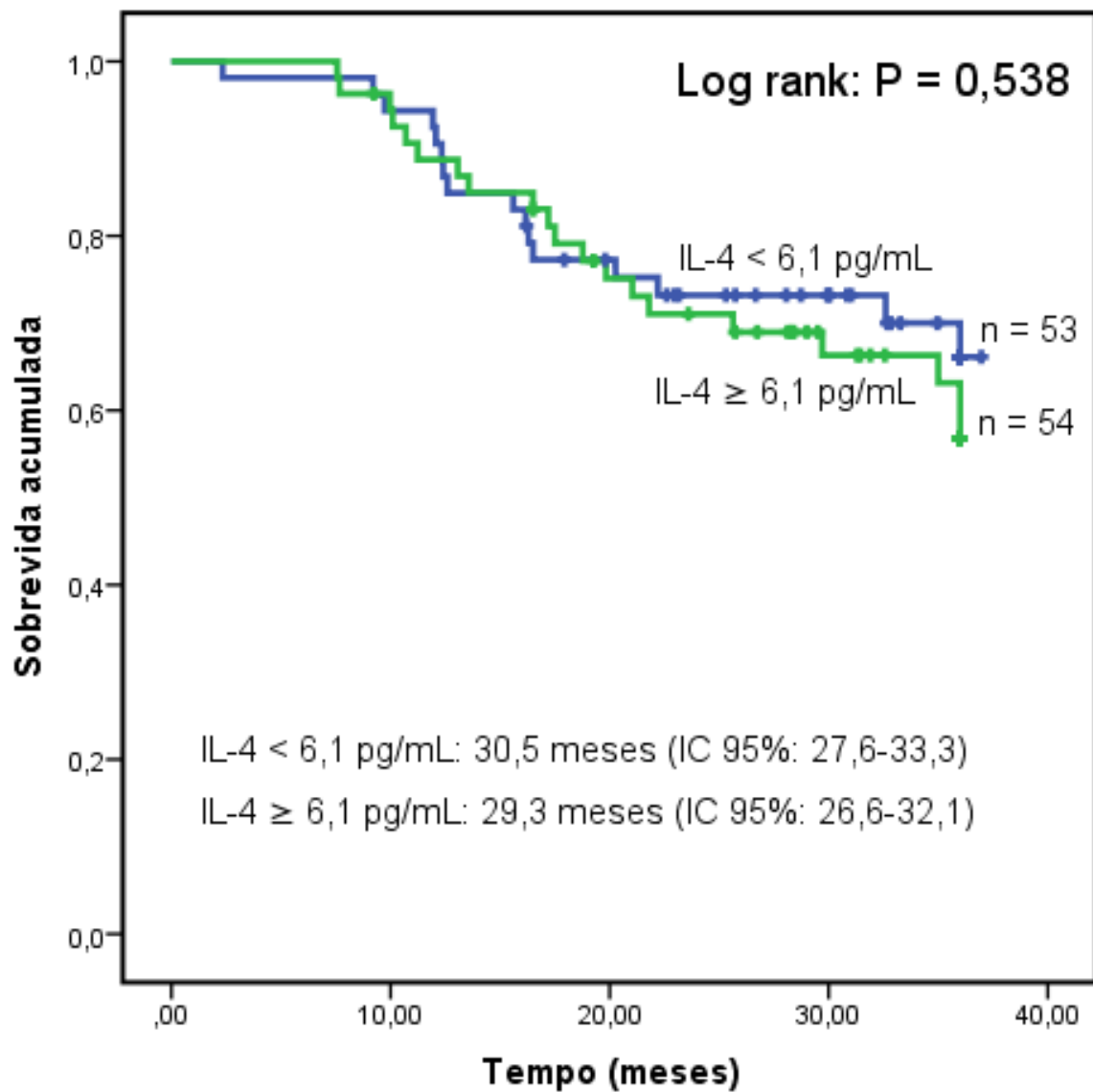


Figura 14. Sobrevida global em 3 anos dos pacientes com CCP (n = 107) em relação a interleucina-4 (IL-4). Curva de Kaplan-Meier.

4.4 REGRESSÃO DE COX UNIVARIADA E MULTIVARIADA DA SOBREVIDA EM RELAÇÃO AOS FATORES CLÍNICO-PATOLÓGICOS E OS BIOMARCADORES.

Segundo o modelo de regressão de Cox (Tabela 4) no cálculo do hazard ratio (HR) com o respectivo intervalo de confiança 95% (IC 95%), na análise univariada, o estágio avançado da doença (HR: 2,16; IC 95%: 1,06 - 4,38; $P = 0,032$), IMC (HR: 0,91; IC 95%: 0,84 - 0,99; $P = 0,032$), PCR (HR: 2,02; IC 95%: 1,03 - 3,95; $P = 0,039$), NT-proBNP (HR: 2,31; IC 95%: 1,07 - 5,03; $P = 0,033$) e radioterapia (HR: 0,06; IC 95%: 0,01 - 0,48; $P = 0,008$) foram associados ao prognóstico. Para excluir possíveis fatores de confusão, uma análise multivariada foi realizada e os resultados revelaram que a PCR (HR: 3,71; 95% CI: 1,44 - 9,53; $P = 0,007$), NT-proBNP (HR: 5,04; 95% CI: 2,02– 12,55; $P = 0,001$) e radioterapia (HR: 0,03; IC95%: 0,004 - 0,39; $P = 0,006$) permaneceram como indicadores prognósticos independentes para a sobrevida global em 3 anos.

Tabela 4: Análise de regressão de Cox univariada e multivariada para sobrevida segundo as variáveis clínico-patológicas e níveis plasmáticos dos biomarcadores.

Variáveis	Análise univariada			Análise multivariada	
	n	HR (IC 95%)	P	HR (IC 95%)	P
Idade					
<60	66	1			
≥60	52	0,87 (0,45 – 1,68)	0,683		
Sexo					
Feminino	20	1			
Masculino	98	0,81 (0,35 – 1,83)	0,607		
Tabagista					
Não	16	1			
Sim	66	1,1 (0,42 – 2,87)	0,846		
Etilismo					
Não	11	1			
Sim	53	0,82 (0,31 – 2,60)	0,824		
Estadiamento					
I + II	52	1		1	
III + IV	66	2,16 (1,06 – 4,38)	0,032*	0,81 (0,26 – 2,58)	0,727
Sítio do tumor					
Cavidade oral	67	1			
Orofaringe	37	0,74 (0,25 – 2,20)	0,598		
Hipofaringe	3	0,90 (0,29 – 2,80)	0,863		
Laringe	11	2,18 (0,39 – 11,93)	0,368		
Tratamento					
Cirurgia	29	1		1	
Radioterapia	9	0,06 (0,01 – 0,48)	0,008*	0,03 (0,004 – 0,39)	0,006*
Cirurgia + RT	9	1,30 (0,45 – 3,76)	0,627	1,14 (0,24 – 5,43)	0,862
Cirurgia + RT + QT	14	0,79 (0,23 – 2,65)	0,709	0,98 (0,16 – 5,96)	0,984
RT + QT	57	1,04 (0,42 – 2,56)	0,927	0,81 (0,26 – 2,52)	0,715
IMC (kg/m²)	116	0,91 (0,84 – 0,99)	0,032*	0,91 (0,81 – 1,03)	0,128
PAS (mmHg)	114	0,98 (0,97 – 1,0)	0,056		

PCR (mg/L)					
<5 mg/L	73	1		1	
≥5 mg/L	31	2,02 (1,03 – 3,95)	0,039*	3,71 (1,44 – 9,53)	0,007*
NT-proBNP (pg/mL)					
<125 pg/mL	61	1		1	
≥125 pg/mL	19	2,31 (1,07 – 5,03)	0,033*	5,04 (2,02– 12,55)	0,001*
cTnT (pg/mL)					
<7,6 pg/mL	45	1			
≥7,6 pg/mL	43	0,82 (0,38 – 1,78)	0,623		
IL-17A (pg/mL)					
<99,5 pg/mL	49	1			
≥99,5 pg/mL	52	0,89 (0,44 – 1,81)	0,767		
INF-γ (pg/mL)					
<17,7 pg/mL	24	1	0,265		
≥17,7 pg/mL	21	1,8 (0,64 – 5,0)			
TNF-α (pg/mL)					
<9,1 pg/mL	24	1	0,865		
≥9,1 pg/mL	24	1,1 (0,42 – 2,8)			
IL-10 (pg/mL)					
<2,8 pg/mL	53	1	0,303		
≥2,8 pg/mL	55	1,4 (0,72 – 2,8)			
IL-6 (pg/mL)					
<21 pg/mL	13	1	0,125		
≥21 pg/mL	13	2,5 (0,77 – 8,1)			
IL-4 (pg/mL)					
<6,1 pg/mL	53	1	0,540		
≥6,1 pg/mL	54	1,2 (0,63 – 2,37)			

* P < 0,05

4.5 AVALIAÇÃO DOS BIOMARCADORES ANTES E APÓS O TRATAMENTO.

A avaliação dos biomarcadores antes e após o tratamento oncológico (figura 15) mostrou que as concentrações das citocinas: TNF- α ($14,2 \pm 11,71$ pg/mL vs $6,77 \pm 3,3$ pg/mL; $P = 0,04$), IL-10 ($4,03 \pm 3,98$ pg/mL vs $3,16 \pm 2,9$ pg/mL; $P = 0,03$) e IL-4 ($7,53 \pm 4,66$ pg/mL vs $5,37 \pm 2,73$ pg/mL; $P = 0,000$) diminuíram após o tratamento. Por outro lado, a concentração da IL-6 aumentou após o tratamento ($25,12 \pm 19,11$ pg/mL vs $87,61 \pm 62,03$ pg/mL; $P = 0,03$). Não houve alteração significativa nos níveis plasmáticos de PCR, NT-proBNP, cTnT, IL-17A e INF- γ antes e após o tratamento.

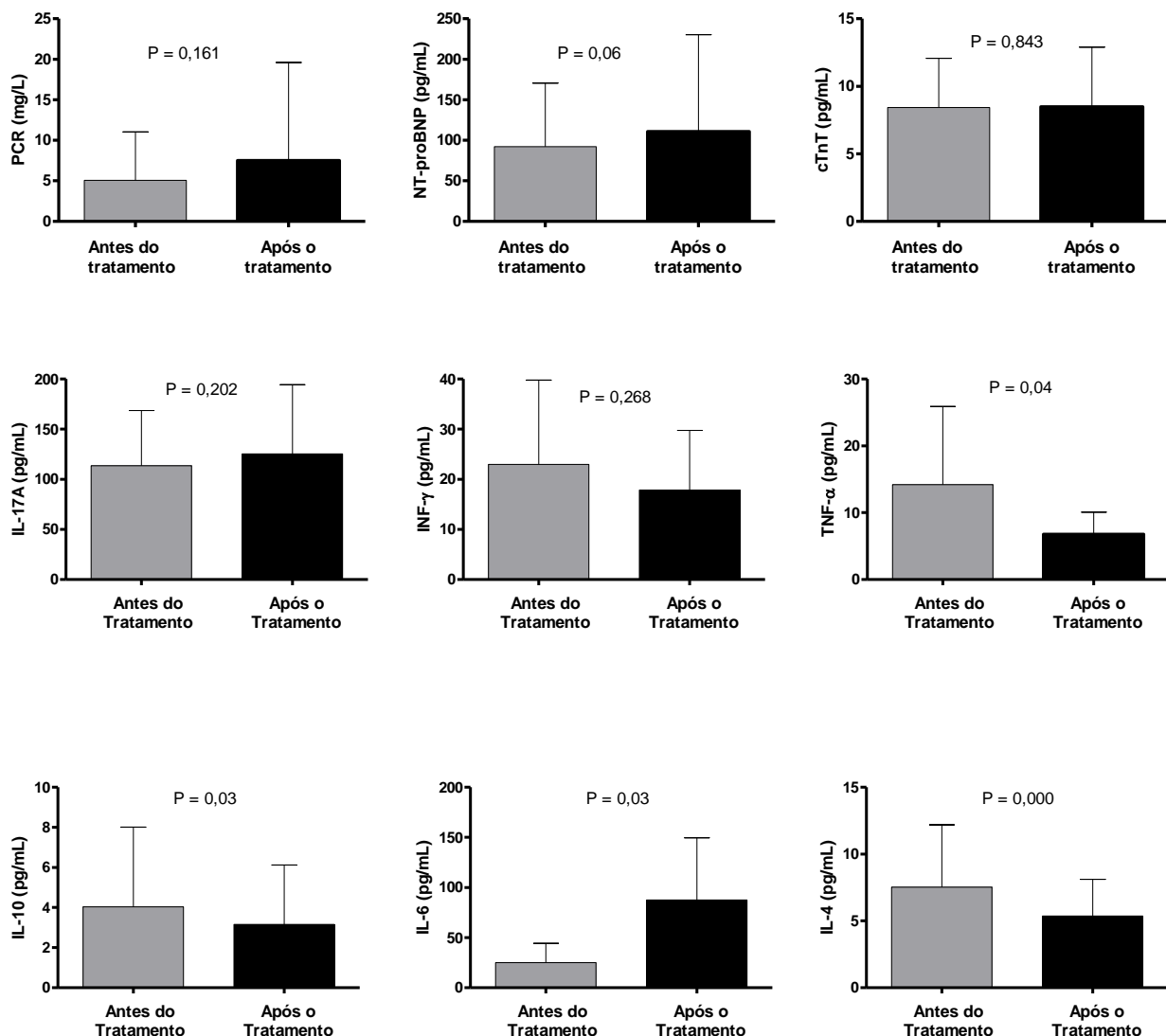


Figura 15. Avaliação da PCR (n = 100), NT-proBNP (n = 79), cTnT (n = 88), IL-17A (n = 100), INF- γ (n = 19), TNF- α (n = 21), IL-10 (n = 107), IL-6 (n = 8) e IL-4 (n = 101) antes e após o tratamento. Teste de Wilcoxon.

4.6 CORRELAÇÃO ENTRE OS BIOMARCADORES E OS TIPOS DE TRATAMENTOS.

Foi realizada a correlação de spearman (r_s) dos biomarcadores antes e após da cirurgia e radioquimioterapia (Tabela 5). Não foi possível fazer a mesma avaliação nos outros tipos de tratamentos por causa do limitado número de pacientes. Observou-se correlações positivas antes e após a cirurgia nos valores do NT-proBNP ($P = 0,007$), cTnT ($P = 0,000$) e IL-4 ($P = 0,023$). Na modalidade radioquimioterápica, os biomarcadores PCR ($P = 0,01$), NT-pro-BNP ($P = 0,000$), cTnT ($P = 0,000$), IL-17A ($P = 0,011$), IL-10 ($P = 0,000$) e IL-4 ($P = 0,000$) também apresentaram correlações positivas.

Tabela 5: Correlação entre os biomarcadores antes e após da cirurgia e radioquimioterapia.

	Cirurgia	Radioquimioterapia
PCR (mg/L) antes vs PCR (mg/L) depois do tratamento		
r_s	0,369	0,343*
Valor de P	0,053	0,010
n	28	56
NT-proBNP (pg/mL) antes vs NT-proBNP (pg/mL) depois do tratamento		
r_s	0,570*	0,666*
Valor de P	0,007	0,000
n	21	42
cTnT (pg/mL) antes vs cTnT (pg/mL) depois do tratamento		
r_s	0,818*	0,652*
Valor de P	0,000	0,000
n	21	43

	Cirurgia	Radioquimioterapia
IL-17A (pg/mL) antes vs IL-17A (pg/mL) depois do tratamento		
r_s	0,257	0,362*
Valor de P	0,226	0,011
n	24	48
INF-γ (pg/mL) antes vs INF-γ (pg/mL) depois do tratamento		
r_s	-0,700	0,033
Valor de P	0,188	0,932
n	5	9
TNF-α (pg/mL) antes vs TNF-α (pg/mL) depois do tratamento		
r_s	-0,300	0,304
Valor de P	0,624	0,291
n	5	14
IL-10 (pg/mL) antes vs IL-10 (pg/mL) depois do tratamento		
r_s	0,334	0,591*
Valor de P	0,096	0,000
n	26	54
IL-6 (pg/mL) antes vs IL-6 (pg/mL) depois do tratamento		
r_s	-	0,200
Valor de P	-	0,800
n	2	4
IL-4 (pg/mL) antes vs IL- (pg/mL) depois do tratamento		
r_s	0,444*	0,477*
Valor de P	0,023	0,000
n	26	50

*P < 0,05.

r_s : coeficiente de correlação de Spearman.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que níveis elevados de PCR e NT-proBNP estão associados com pior prognóstico no CCP independente de sexo, idade, tabagismo, etilismo, estadiamento, localização do tumor primário, IMC, PAS e do tratamento (exceto a radioterapia). E, apesar da cTnT não ter influenciado na sobrevida desses pacientes, ela foi correlacionada positivamente com o tratamento cirúrgico e a radioquimioterapia. Além disso, foi observado um desequilíbrio no perfil de citocinas pró e anti-inflamatórias após o tratamento do CCP, com um aumento da IL-6 e redução da IL-10, IL-4 e TNF- α .

O perfil da nossa amostra é condizente com os dados da literatura que mostram a maior prevalência desse tipo de câncer em indivíduos do sexo masculino, fumantes, etilistas e com idade acima de 50 anos (Oliveira et al., 2014a). Estes são fatores de riscos que contribuem para um aumento da mortalidade, o que pode ser um dos motivos pelo qual a sobrevida no CCP não aumentou nos últimos anos, pois ainda possui uma taxa de 50% de sobrevida em 5 anos.

Diferente de outros estudos, no nosso estudo a PCR foi um fator prognóstico no câncer de CCP independente do tabagismo e do IMC, que são fatores conhecidos por influenciarem os níveis de PCR (Tchernof et al., 2002; Golpe et al., 2017). A presença de uma resposta inflamatória sistêmica está associada a um pior prognóstico em vários tipos de neoplasias malignas, e essa condição também pode aumentar o risco de eventos cardiovasculares em pacientes com câncer (Pavo et al., 2017). Outros estudos já sugeriram o envolvimento de níveis aumentados de PCR com o desfecho clínico em pacientes com câncer (Szkandera et al., 2013; Thurner et al., 2015), incluindo pacientes com CCP (Kruse et al., 2010; Chen et al., 2011; Andersson et al., 2014). Adicionalmente, a PCR obteve diferença significativa em relação ao tamanho do tumor e estadiamento, mostrando que em tumores avançados (T3+T4 e III+IV) seu valor estava mais elevado, corroborando com resultados já encontrados por nosso grupo de pesquisa (Oliveira et al., 2014b).

A PCR, apesar de inespecífica, tem se mostrado preditiva e prognóstica nas diversas formas de doenças cardiovasculares, especialmente associada ao CCP (Nouraei et al., 2007; Peter et al., 2013). Evidências que podem ser explicadas pela correlação da PCR

com disfunção endotelial que pode refletir no desenvolvimento da aterosclerose (Koenig, 2013). Além disso, uma recente meta-análise demonstrou que indivíduos com níveis elevados de PCR apresentaram um risco 25% maior de mortalidade por câncer (Li et al., 2017). No mesmo estudo, indivíduos com os níveis mais altos de PCR tiveram um aumento de 2,03 vezes no risco de mortalidade por todas as causas e por doenças cardiovasculares em comparação com a categoria com níveis mais baixos de PCR.

É conhecido que a sobrevida dos pacientes com CCP é reduzida, diante destes resultados podemos afirmar que a PCR é um fator de risco que está associado às complicações e alterações em parâmetros cardiovasculares que podem ser uma das causas de morte, que não só pelo câncer. Ela é capaz de promover inibição da eNOS que leva uma redução de óxido nítrico, promove expressão de moléculas de adesão, estimula monócitos na produção de citocinas pró-inflamatórias, entre outros efeitos, mas estes já são fatores de riscos cardiovasculares que estão contribuindo para o aparecimento de outras doenças que agravam a saúde do paciente como infarto, doença vascular periférica e AVC. Os tratamentos com quimioterápicos têm efeitos negativos no sistema cardiovascular que somados as ações da PCR podem elevar os riscos de DCVs nos pacientes com CCP.

No presente estudo, além do NT-proBNP influenciar negativamente no desfecho clínico dos pacientes, houve correlação positiva dos seus níveis antes e após o tratamento oncológico, tanto na cirurgia e na radioquimioterapia. Gimeno e colaboradores (2011) mostraram que pacientes com linfoma não- Hodgkin com níveis elevados de NT-proBNP antes da quimioterapia tiveram maior risco de toxicidade cardíaca com progressão da insuficiência cardíaca e morte por todas as causas (Gimeno et al., 2011), entretanto, o valor prognóstico deste marcador ainda não tinha sido investigado no CCP antes e após a terapia antineoplásica, como realizado por nosso estudo. Um estudo recente hipotetizou a relação entre o câncer e o BNP, mostrando que os níveis de BNP estavam elevados em pacientes oncológicos, o que é provavelmente devido à inflamação relacionada ao câncer (Bando et al., 2017). Sabe-se que o microambiente do CCP é caracterizado por um excesso de citocinas imunossupressoras, incluindo a IL-6, que estimulam a produção de BNP pelos cardiomiócitos (Gildener-Leapman et al., 2013; Bando et al., 2017). Além disso, o NT-proBNP foi associado a um diagnóstico futuro de câncer em pacientes com doença arterial coronariana (Tuñón et al., 2015).

Foi demonstrado que o BNP é expresso tanto nas glândulas supra-renais normais quanto nos tumores adrenais, sugerindo que os peptídeos natriuréticos podem ter outros papéis não relacionados ao sistema cardiovascular (Totsune et al., 1996). Um estudo realizado em 99 pacientes com câncer e com um nível de BNP > 1000 pg/mL, o que é cem vezes o limite superior do normal, demonstrou que a elevação de BNP foi mais associada com tumores sólidos do que com neoplasias hematológicas e, ainda, mais de 70% dos pacientes com níveis elevados de BNP não apresentavam sinais de sobrecarga de volume no ventrículo (Burjonrappa et al., 2007).

Pavo e colaboradores (2015) também relataram níveis séricos elevados de BNP e troponina T de alta sensibilidade em pacientes com câncer sem quaisquer manifestações clínicas de doença cardíaca, e que os níveis desses biomarcadores cardiovasculares foram maiores em pacientes com estadios IV. Em contraste a estes resultados, no nosso estudo, o nível de NT-proBNP não se alterou entre os estádios. No entanto, em outro estudo foi relatado que a elevação dos níveis de NT-proBNP estava relacionado à sobrecarga de volume ventricular em pacientes com câncer (Popat et al., 2013).

No presente estudo, o NT-proBNP mostrou ser um fator independente de fatores de riscos cardiovasculares importantes, como a pressão arterial, o IMC e o fumo. Assim, o valor altamente preditivo dos peptídeos cardiovasculares pode ser devido a sua capacidade de detectar um comprometimento funcional subclínico do sistema cardiovascular, causado pelo câncer, antes mesmo dessas alterações serem detectáveis nos exames ecocardiográficos de rotina (Pavo et al., 2015). No entanto, a relação exata entre câncer, NT-proBNP, sobrecarga de volume ventricular, disfunção ventricular ou outros fatores de risco ainda não é clara, apesar de alguns autores sugerirem a produção de peptídeos natriuréticos pelas células cancerosas (Ohsaki et al., 1999; Bando et al., 2017).

Além disso, a radioquimioterapia também pode desencadear cardiotoxicidade refletindo nos níveis dos peptídeos natriuréticos. Um estudo com 62 pacientes com câncer mostrou uma forte associação entre os altos níveis de NT-proBNP e disfunção cardíaca após 1 ano de tratamento com quimioterapia (Sandri et al., 2005), porém este estudo não foi realizado em pacientes com CCP. Além disso, o BNP também mostrou ser preditivo de lesão miocárdica em pacientes com câncer de esôfago em tratamento com radioterapia (Jingu et al., 2007). No presente estudo, não houve mudança significativa nos valores de

NT-proBNP antes e após os tratamentos, porém houve uma correlação positiva entre os níveis do NT-proBNP após o tratamento cirúrgico e da radioquimioterapia.

No nosso estudo, os níveis de cTnT também não influenciaram a taxa de sobrevida global em 3 anos, mas correlações positivas foram observadas entre os níveis de cTnT na cirurgia e na radioquimioterapia. Até o presente momento, não houve relatos prévios mostrando a avaliação dos níveis de cTnT no CCP antes da terapia antineoplásica. Nagele e colaboradores (2011) descobriram que pacientes com CCP com níveis elevados de cTnI após o tratamento cirúrgico tiveram um risco 2 vezes maior de morte durante o primeiro ano após a cirurgia, mas a sobrevida a longo prazo aos 6 anos não foi diferente entre os grupos.

Nouraei e colaboradores (2007) avaliaram a cTnI nos pacientes com CCP após a cirurgia e encontraram elevação da cTnI em 25% dos pacientes. Além disso, os níveis de pressão arterial sistólica (PAS) e PCR foram preditores independentes de elevação da cTnI no pós-operatório (Nouraei et al., 2007). No nosso estudo, apenas 9 (10,2%) dos 88 pacientes apresentaram um nível de cTnT acima de 14 pg/mL, que é o ponto de corte pré-definido pelo fabricante do teste para um teste positivo para lesão miocárdica. O fato da cTnT não ter sido associada ao desfecho clínico no nosso estudo, pode ser devido a um menor valor preditivo da cTnT comparado a cTnI em pacientes com câncer (Christenson et al., 2015).

Investigações anteriores mostraram que mesmo pequenas elevações nos níveis de cTnT e BNP predizem piores desfechos em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva (ICC) estável (Latini et al., 2011). Além disso, a troponina cardíaca é um biomarcador de lesão cardíaca indetectável em indivíduos saudáveis (Wallace et al., 2006) e pacientes com ICC e níveis de cTnT superiores a 10 pg/mL tiveram piores desfechos cardíacos com aumento da mortalidade em comparação a pacientes com níveis de cTnT abaixo de 10 pg/mL (Latini et al., 2011). Todas as amostras que foram avaliadas em nosso estudo tinham valores detectáveis de hs-cTnT, o que é preocupante, e 22 (25%) de 88 pacientes tinham um nível de hs-cTnT acima de 10 pg/mL no início do estudo, o que só aumenta o risco cardiovascular desse paciente quando for submetido ao tratamento oncológico.

Já é bem conhecido que a terapia anti-câncer é cardiotoxica (Henri et al., 2016) e estudos mostraram que o risco cardíaco aumenta após a cirurgia no câncer de cabeça e pescoço (Nouraei et al., 2007; Nagele et al., 2011). Portanto, o presente estudo mostrou que os biomarcadores cardíacos PCR e NT-proBNP podem influenciar no desfecho clínico dos pacientes com CCP mesmo antes do início de qualquer terapia. Um estudo anterior relatou que 23% dos pacientes com CCP tinham doença cardiovascular e 24% tinham pressão arterial não controlada no momento do diagnóstico, mas nenhum biomarcador plasmático foi avaliado (Okoye et al., 2017). Portanto, é importante considerar estratégias para prevenção de doenças cardiovasculares no CCP que envolvam atenção primária e profissionais de oncologia e cardiologia.

Neste estudo o tratamento por radioterapia mostrou ser um fator de proteção significativo em relação à quimioterapia. De forma semelhante outros estudos mostraram que o tratamento combinado de quimioterapia e radioterapia está associado a toxicidades mais altas em relação ao uso de radioterapia sozinha (Forastiere et al., 2003; Haddad e Shin, 2008). Isso pode ser devido ao fato de que os agentes quimioterápicos mais usados no tratamento do CCP são a cisplatina e o 5-fluorouracil, e esses agentes têm sérios efeitos cardiotoxicos (Senkus e Jassem, 2011).

As citocinas avaliadas nesse estudo não influenciaram no prognóstico em 3 anos dos pacientes com CCP, porém observou-se um desequilíbrio entre as citocinas pró e anti-inflamatórias, com um aumento da IL-6 e uma diminuição da IL-10, IL-4 e TNF- α após tratamento. Ainda, houve uma correlação positiva da IL-17A e IL-10 antes e após a radioquimioterapia, e uma correlação positiva da IL-4 antes e após a cirurgia e radioquimioterapia. Estudos anteriores fornecem evidências do envolvimento das citocinas, como IL-6, IL-8 e IL10, na patogênese do CCP, embora não esteja claro se elas desempenham papéis na transformação celular ou são apenas super produzidas como resultado da resposta imune contra o tumor (Eyigor et al., 2014). Além disso, IL-6 e IL-10 não são apenas produzidas pelas células do sistema imunológico, mas também pelas células tumorais (Pries et al., 2006). Especula-se que estas citocinas são usadas pelas células tumorais para evadir e/ou suprimir a resposta imune (Eyigor et al., 2014). No entanto, há poucos estudos sobre o papel delas associada ao tratamento do CCP.

Níveis mais elevados de IL-6 têm sido associados com hipertensão e produção hepática de PCR (Kanda e Takahashi, 2004), que por sua vez está associada à doença cardiovascular. Do ponto de vista do câncer, a IL-6 demonstrou inibir a apoptose de células cancerígenas, estimular a angiogênese e desempenhar um papel na resistência a drogas e na progressão tumoral (Guo et al., 2012; Yao et al., 2014). No câncer da cavidade oral a alta expressão de IL-6 nas células tumorais foi associada ao estadiamento avançado do tumor e baixa sobrevida em pacientes do sexo masculino (Chen et al., 2012). Por outro lado, e corroborando com nossos resultados, Druzgal e colaboradores (2005) também não encontraram associação entre sobrevida, estadiamento do tumor e concentração de IL-6 no soro de 29 pacientes com CCP, mas houve aumento do nível de IL-6 pós-tratamento. Dado que aumenta a evidência de que esta citocina possa estar elevada por outros motivos, incluindo infecção e complicações inflamatórias. Porém, há poucos estudos que avaliam a influência dessa citocina nos diferentes tratamentos do CCP.

Sato e colaboradores (2013) avaliaram a concentração de IL-6 na saliva de 27 pacientes com câncer da cavidade oral e não encontraram diferenças nos níveis pré e pós-operatórios dessa citocina, porém, os altos níveis de IL-6 no pós-operatório foi um fator de risco independente para recidiva regional. Além do possível papel da IL-6 na recidiva do tumor de células escamosas, sua alta expressão em tumores da cavidade oral foi um fator preditivo para falha da resposta à radioquimioterapia e prognóstico desfavorável (Jino et al., 2015). Resultados diferentes ao que encontramos, pois no nosso estudo a IL-6 não influenciou na sobrevida dos pacientes.

No entanto, também há estudos que associam altos níveis de IL-6 à caquexia e fadiga no câncer do pâncreas e do pulmão, respectivamente (Martignoni et al., 2005, Bayliss et al., 2011). O que pode ser um dos fatores que pode explicar a perda de peso dos nossos pacientes após o tratamento, já que em estudos anteriores do nosso grupo os pacientes com CCP relataram altos níveis de sintomas como perda de peso e fadiga (Oliveira et al., 2014a) e altos níveis de TNF- α (Oliveira et al., 2014b), citocina que também está relacionada a caquexia e fadiga no câncer (Meyers et al., 2005; Fearon et al., 2012). Adicionalmente, a caquexia relacionada ao câncer pode induzir a uma insuficiência cardíaca, que por sua vez exacerba a caquexia e piora o prognóstico dos pacientes oncológicos (Kazemi-Bajestani et al., 2014; Belloum et al., 2017).

Nos nossos resultados, o TNF- α não influenciou na sobrevida e nem na progressão tumoral dos pacientes com CCP. O TNF- α foi descrito como um promotor endógeno de câncer via ativação do fator de transcrição NF- κ B e é expresso por diferentes células tumorais (Pries et al., 2006). Estudos clínicos mostraram que altos níveis de TNF- α no plasma influenciaram a sobrevida e progressão tumoral nos pacientes com CCP (Peter et al., 2013; Andersson et al., 2014), resultados que não encontramos no presente estudo. Ainda, Citrin e colaboradores (2012) relataram que os níveis dessa citocina na saliva em 11 pacientes com câncer da cavidade oral aumentaram após tratamento com radioterapia. No nosso estudo o TNF- α diminuiu após o tratamento, porém ela foi avaliada no plasma.

Em contrapartida, um estudo mais recente e com um número maior de pacientes com câncer da cavidade oral ($n = 81$) não encontrou diferenças na sobrevida e nem na progressão do tumor em relação às concentrações de TNF- α no sangue dos pacientes (Schiegnitz et al., 2018), corroborando com nosso estudo. Outro resultado encontrado no presente estudo foi um nível maior de TNF- α nos pacientes fumantes em relação aos não-fumantes. Resultado também encontrado em pacientes fumantes com doença pulmonar obstrutiva (Tanni et al., 2010; Díez Piña et al., 2012), provavelmente devido a inflamação provocada pelo tabaco, que aumenta a produção de neutrófilos, macrófagos e células T liberando mediadores pró-inflamatórios no pulmão e nas vias aéreas (Serapinas et al., 2011).

A citocina pró-inflamatória IFN- γ também não influenciou na sobrevida e na progressão tumoral dos nossos pacientes. A IFN- γ é secretada pelas células T ativadas e estimula diferentes componentes do sistema imunológico mediado por células, tais como linfócitos T citotóxicos, macrófagos e células natural killers (NK) (Pries et al., 2006). Ela tem sido associada à vigilância imunológica relacionada ao câncer (Kaskas et al., 2014) e sua redução após o tratamento no nosso estudo, apesar de não ter sido significativa, pode ser considerada um fator prognóstico agravante, pois estudos associam a sua redução com uma maior incidência de recidiva tumoral (Thiounn et al., 1995; Lucey et al., 1996). No CCP, o IFN- γ demonstrou uma regulação negativa da expressão do receptor CXCR4 (Katayama et al., 2005), que desempenha um papel importante na migração e metástase de células tumorais (Rave-Fränk et al., 2016). Além disso, um estudo recente mostrou que o IFN- γ pode sensibilizar as células do CCP à apoptose e necrose induzidas pela quimioterapia por meio da regulação positiva do gene Egr-1 (*Early Growth Response-1*),

que estimula a formação do fator antiangiogênico trombospondina-1 (TSP-1) (Xu et al., 2014). Assim, alguns estudos sugerem o INF- γ como potencial alvo terapêutico para melhorar a resposta do tumor de CCP ao tratamento (Richtsmeier et al., 1990; Mazibrada et al., 2010; Berinstein et al., 2012).

Poucos estudos analisaram a influência da IL-17A na sobrevida e progressão do tumor no CCP. Nossos resultados não encontraram essa associação, porém, outros estudos associaram altos níveis de IL-17A no sangue dos pacientes com CCP com a progressão da doença e sobrevida dos pacientes com CCP (Li et al., 2011; Li et al., 2016; Lee et al., 2018). Resultado provavelmente devido ao papel ambíguo dessa citocina em diversos tipos de câncer, inclusive no CCP (Young, 2016), podendo exercer atividade pró-tumoral quanto antitumoral. Bem como ela pode ter efeitos pró-aterogênicos ou protetores.

As duas principais citocinas anti-inflamatórias (Th2) são IL-4 e IL-10. Estudos em modelos animais indicam que a IL-4 e IL-10 estão envolvidas na progressão do tumor (Salazar-Onfray et al., 2007; Li et al., 2009). Porém, há um número limitado de estudos que investigaram a associação dos níveis séricos dessas citocinas em pacientes com CCP e com resultados controversos. Enquanto uns relatam altos níveis de IL-10 e IL-4 e as relacionam com a progressão do tumor no CCP (Lathers e Young, 2004; Sparano et al., 2004; Jebreel et al., 2007), outros estudos não encontraram diferenças na sua concentração em relação aos controles saudáveis (Riedel et al., 2004; Druzgal et al., 2005; Linkov et al., 2007; Kaskas et al., 2014). Além disso, os estudos que relatam a influência da IL-10 na sobrevida de pacientes de CCP, não compararam os níveis dessa citocina entre os pacientes, mas sim quem apresentava IL-10 detectável ou não no soro (Alhamarneh et al., 2011; Green et al., 2012). O estudo de Alhamarneh e colaboradores (2011) também relatou a diminuição dos níveis de IL-10 após o tratamento, confirmando a conclusão do estudo de Chandler e colaboradores (2002), de que os tumores do CCP são a principal fonte de produção da IL-10.

Em relação a IL-4, no presente estudo, não houve associação de seus níveis plasmáticos à sobrevida nos pacientes com CCP. No estudo de Kwon e colaboradores (2015) a alta expressão do receptor de IL-4 (IL-4R α) nos tumores da cavidade oral foi associada ao estágio avançado e recidiva do tumor. Porém, não houve influência do IL-4R α na sobrevida e os níveis plasmáticos da IL-4 não foram avaliados. Foi demonstrado que a IL-

4 induz a catepsina em macrófagos associados aos tumores, *in vitro* e *in vivo*, que por sua vez induzem a expressão de metaloproteinases da matriz produzindo migração e invasão de células tumorais (Gocheva et al., 2010). Adicionalmente, a IL-4 antagoniza os efeitos do INF- γ prejudicando a imunidade anti-tumoral (Rosenzweig e Holland, 2005; Pries et al., 2006). Portanto, no nosso estudo, sua diminuição após o tratamento pode ser considerado um fator favorável para a resposta do paciente ao tratamento.

Evidências na literatura sustentam que há um desequilíbrio de citocinas pró (Th1) e anti-inflamatórias (Th2) no soro de pacientes com CCP, com um aumento de Th2 em relação a Th1, produzindo um ambiente *in vivo* incapaz de promover uma resposta anti-tumoral apropriada (Lathers e Young, 2004; Pries et al., 2006; Jebreel et al., 2007). No presente estudo, não foi possível avaliar as concentrações das citocinas em relação a controles e, também, as citocinas não influenciaram no prognóstico dos pacientes com CCP. Porém, algumas citocinas (IL-6, TNF- α , IL-10 e IL-4) comprovaram estar em desequilíbrio após o tratamento, o que pode ser um fator desfavorável para resposta ao tratamento desses pacientes. Paralelamente, este desequilíbrio entre o perfil Th1/Th2 juntamente com a influência dos marcadores PCR e NT-proBNP, que se mostraram fatores preditores independentes para pior desfecho clínico, podem desencadear outros estados inflamatórios que podem contribuir para as DCVs (Girn et al., 2007) piorando o prognóstico desses pacientes.

Há evidências na literatura que sugerem que o câncer e as DCVs compartilham dos mesmos mecanismos biológicos (Blaes et al., 2017) e, adicionalmente, existem vários fatores de riscos compartilhados tanto para o CCP quanto para as DCVs: idade, sexo, dieta e uso do tabaco e álcool. Portanto, o controle de fatores de riscos cardiovasculares também pode melhorar a incidência do CCP.

Existem algumas limitações no presente estudo. A PCR é conhecida por ser um marcador não específico de inflamação e também é possível que a presença de outras doenças sistêmicas possam influenciar os níveis séricos dos biomarcadores. Não fomos capazes de avaliar sinais clínicos de dano cardíaco, mas a falta de evidência de uma função cardíaca afetada não exclui a possibilidade de deterioração cardíaca futura. Além disso, a identificação da doença subclínica preexistente parece ser possível com o uso de biomarcadores de testes rápidos e custo-efetivos, tais como PCR e NT-proBNP, no

sangue. Por exemplo, apenas o paciente que possuir um valor de BNP anormal deve fazer um ecocardiograma, levando a uma abordagem segura e diminuindo custos (Scott, 2010). Além de que esses biomarcadores possuem testes rápidos, econômicos e são realizados em testes laboratoriais de rotina. Eles poderiam ser úteis na identificação de disfunção cardíaca precoce para otimizar o atendimento ao paciente com CCP e desenvolver estratégias de cardioproteção antes do tratamento.

6. CONCLUSÃO

Em conclusão, os níveis elevados de PCR e NT-proBNP antes do tratamento influenciaram a sobrevida global de 3 anos dos pacientes com CCP. Adicionalmente, o desequilíbrio das citocinas Th1/Th2 após o tratamento pode tanto prejudicar a resposta anti-tumoral do sistema imunológico, quanto levar o paciente a estados inflamatórios e DCVs que podem contribuir para uma má resposta ao tratamento e influenciar no prognóstico dos pacientes com CCP. Portanto, estratégias que avaliem e acompanhem esses pacientes durante o tratamento é de suma importância para tentar melhorar a resposta ao tratamento, ou implantar novas terapias para aumentar a sobrevida e dar uma qualidade de vida aos pacientes com CCP.

7. REFERÊNCIAS

Adão R, de Keulenaer G, Leite-Moreira A, et al. Cardiotoxicity associated with cancer therapy: pathophysiology and prevention strategies. *Rev Port Cardiol*. 2013;32(5):395-409.

Aggarwal S, Gurney A. L. IL-17: prototype member of an emerging cytokine family. *Journal of leukocyte biology*. 2002;71(1):1–8.

Alhamarneh O, Agada F, Madden L, et al. Serum IL10 and circulating CD4(+) CD25(high) regulatory T cell numbers as predictors of clinical outcome and survival in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2011;33(3):415-23.

Allin KH, Bojesen SE, Nordestgaard BG. Baseline C-reactive protein is associated with incident cancer and survival in patients with cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27:2217–2224.

Allin KH, Nordestgaard BG. Elevated C-reactive protein in the diagnosis, prognosis, and cause of cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2011;48(4):155-70.

Alpert JS, Thygesen K, Antman E, et al. Myocardial infarction redefined—a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36:959–969.

American Cancer Society. Cancer facts & figures 2017. Atlanta, 2017. Disponível em: <<https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-andstatistics/annual-cancer-facts-and-figures/2017/cancer-facts-and-figures-2017.pdf>>. Acesso em: 07/05/2018.

Andersson BA, Lewin F, Lundgren J, et al. Plasma tumor necrosis factor-alpha and C-reactive protein as biomarker for survival in head and neck squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014;140:515–519.

Andreadis EA, Geladari C. Brain Natriuretic Peptide: Structure, Action and Role in the Diagnosis and Prognosis of Heart Failure. *Hospital Chronicles*. 2015;10:202–209.

Andreotti M, Rodrigues AN, Cardoso LMN, et al. Ocupação e câncer da cavidade oral e orofaringe. *Cadernos de Saúde Pública*. 2006;22(3):543-552.

Ansar W, Ghosh S. C-reactive protein and the biology of disease. *Immunol Res*. 2013;56(1):131-42.

Ara MN, Hyodo M, Ohga N, Akiyama K, Hida, et al. Identification and expression of troponin T, a new marker on the surface of cultured tumor endothelial cells by aptamer ligand. *Cancer Med*. 2014;3(4):825-34.

Bando S, Soeki T, Matsuura T, et al. Plasma brain natriuretic peptide levels are elevated in patients with cancer. *PLoS One*. 2017;12:e0178607.

Bayliss TJ, Smith JT, Schuster M, et al. A humanized anti-IL-6 antibody (ALD518) in non-small cell lung cancer J.R. *Expert Opin. Biol. Ther*. 2011; 11:1663–1668.

Belloum Y, Rannou-Bekono F, Favier FB. Cancer-induced cardiac cachexia: Pathogenesis and impact of physical activity (Review). *Oncol Rep*. 2017;37(5):2543-2552.

Berinstein NL, Wolf GT, Naylor PH, et al. Increased lymphocyte infiltration in patients with head and neck cancer treated with the IRX-2 immunotherapy regimen. *Cancer Immunol Immunother*. 2012;61(6):771-82.

Bernardo M, Nunes, O. Tumores de cabeça e pescoço: o que há de novo na quimioterapia. *Caderno de Otorrinolaringologia*. 2010;1-12.

Biasucci LM, Liuzzo G, Fantuzzi G, Caligiuri et al. Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events. *Circulation*. 1999;99:2079–2084.

Blaes A, Prizment A, Koene RJ, Konety S. Cardio-oncology Related to Heart Failure Common Risk Factors Between Cancer and Cardiovascular Disease. *Heart failure clinics*. 2017;13(2):367-380.

Brasil. Ministério da Saúde [Internet]. Departamento de Informática do SUS – DATASUS. Informações de Saúde. Estatísticas Vitais. Sistema de Informação sobre Mortalidade. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sim/cnv/obt10br.def>. Acesso em: 01/03/2018.

Burjonrappa SC, Tong AT, Xiao LC, et al. Cancer patients with markedly elevated B-type natriuretic peptide may not have volume overload. *Am J Clin Oncol*. 2007;30:287–293.

Cacciaputo F. Natriuretic Peptide System and Cardiovascular Disease. *Heart Views* 2010;11:10–15.

Cardinale D, Biasillo G, Salvatici M, et al. Using biomarkers to predict and to prevent cardiotoxicity of cancer therapy. *Expert Rev Mol Diagn*. 2017;17(3):245-256.

Cardinale D, Sandri MT. Role of biomarkers in chemotherapy-induced cardiotoxicity. *Prog Cardiovasc Dis*. 2010;53:121–129.

Casas JP, Shah T, Hingorani AD, et al. C-reactive protein and coronary heart disease: a critical review. *J Intern Med*. 2008;264(4):295–314.

Cermak J, Key NS, Bach RR, et al. C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor. *Blood*. 1993;82:513-20.

Chandler SW, Rassekh CH, Rodman SM, Ducatman BS. Immunohistochemical localization of interleukin-10 in human oral and pharyngeal carcinomas. *Laryngoscope*. 2002;112:808–815.

Chen C, Liu JB, Bian ZP, et al. Cardiac troponin I is abnormally expressed in non-small cell lung cancer tissues and human cancer cells. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;15;7(4):1314-24.

Chen CJ, Sung WW, Lin YM, et al. Gender difference in the prognostic role of interleukin 6 in oral squamous cell carcinoma. *PLoS One*. 2012;7:e50104.

Chen HH, Chen IH, Liao CT, et al. Preoperative circulating C-reactive protein levels predict pathological aggressiveness in oral squamous cell carcinoma: a retrospective clinical study. *Clin Otolaryngol.* 2011;36:147–153.

Chen IH, Liao CT, Wang HM, et al. Using SCC antigen and CRP levels as prognostic biomarkers in recurrent oral cavity squamous cell carcinoma. *PLoS One.* 2014;9:e103265.

Cheng X, Yu X, Ding YJ, et al. The Th17/Treg imbalance in patients with acute coronary syndrome. *Clin Immunol* 2008;127(1):89-97.

Choi KM, Ryu OH, Lee KW, et al. Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007;75:235-40.

Christenson ES, James T, Agrawal V, Park BH. Use of biomarkers for the assessment of chemotherapy-induced cardiac toxicity. *Clin Biochem.* 2015;48:223–235.

Chung HK, Lee IK, Kang H et al. Statin inhibits interferon gamma- induced expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Exp Mol Med* 2002; 34: 451–61.

Citrin DE, Hitchcock YJ, Chung EJ, et al. Determination of cytokine protein levels in oral secretions in patients undergoing radiotherapy for head and neck malignancies. *Radiat Oncol.* 2012;26:7-64.

Colombo J, Rahal P. Alterações Genéticas em câncer de cabeça e pescoço. *Rev Bras Cancerol.* 2009;55(2):165-174.

Conway DI, Hashibe M, Boffetta P, et al. Enhancing epidemiologic research on head and neck cancer: INHANCE - The international head and neck cancer epidemiology consortium. *Oral Oncol.* 2009;45:743-746.

Curfs JH, Meis JF, Hoogkamp-Korstanje JA. A primer on cytokines: sources, receptors, effects, and inducers. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10:742-780.

Danzaki K, Matsui Y, Ikesue M, et al. Interleukin-17A deficiency accelerates unstable atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32(2): 273-280.

de Lemos JA, Drazner MH, Omland T, et al. Association of troponin T detected with a highly sensitive assay and cardiac structure and mortality risk in the general population. *JAMA.* 2010;304(22):2503–2512.

deFilippi CR, de Lemos JA, Christenson RH, et al. Association of serial measures of cardiac troponin T using a sensitive assay with incident heart failure and cardiovascular mortality in older adults. *JAMA.* 2010;304(22):2494–2502.

Díez Piña JM, Fernández Aceñero MJ, Llorente Alonso MJ, et al. Tumor necrosis factor as an early marker of inflammation in healthy smokers. *Med Clin (Barc).* 2012;139(2):47-53.

Dobrossy L. Epidemiology of head and neck cancer: magnitude of the problem. *Cancer Metastasis Rev.* 2005;24:9-17.

Druzgal CH, Chen Z, Yeh NT, et al. A pilot study of longitudinal serum cytokine and angiogenesis factor levels as markers of therapeutic response and survival in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 2005;27(9):771-84.

Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol.* 2010;17:1471–1474.

Eid RE, Rao DA, Zhou J, et al. Interleukin-17 and interferon gamma are produced concomitantly by human coronary artery infiltrating T cells and act synergistically on vascular smooth muscle cells. *Circulation.* 2009;119(10):1424-1432.

Erbel C, Akhavanpoor M, Okuyucu D, et al. IL-17A Influences Essential Functions of the Monocyte/Macrophage Lineage and Is Involved in Advanced Murine and Human Atherosclerosis. *J Immunol.* 2014;193(9):4344-4355.

Erbel C, Chen L, Bea F, et al. Inhibition of IL-17A attenuates atherosclerotic lesion development in apoE-deficient mice. *J Immunol.* 2009;183:8167–8175.

Erbel C, Dengler TJ, Wangler S, et al. Expression of IL-17A in human atherosclerotic lesions is associated with increased inflammation and plaque vulnerability. *Basic Res Cardiol.* 2011;106(1):125-134.

Eyigor M, Eyigor H, Osma U, et al. Analysis of serum cytokine levels in larynx squamous cell carcinoma and dysplasia patients. *Iran J Immunol.* 2014;11(4):259-268.

Fiuza M, Ribeiro L, Magalhães A, et al. Organization and implementation of a cardio-oncology program. *Rev Port Cardiol.* 2016;35(9):485-94.

Fearon KC, Glass DJ, Guttridge DC. Cancer cachexia: mediators, signaling, and metabolic pathways. *Cell Metab.* 2012;16(2):153-166.

Forastiere A, Koch W, Trotti A, Sidransky D. Head and neck cancer. *N Engl J Med.* 2001;345(26):1890-900.

Forastiere AA, Goepfert H, Maor M, et al. Concurrent chemotherapy and radiotherapy for organ preservation in advanced laryngeal cancer. *N Engl J Med.* 2003;349:2091–2098.

Galkina E, Ley K. Immune and Inflammatory Mechanisms of Atherosclerosis. *Annu.Rev. Immunol.* 2009;27:97-165.

Gao Q, Jiang Y, Ma T, et al. A critical function of Th17 proinflammatory cells in the development of atherosclerotic plaque in mice. *J Immunol.* 2010;185(10):5820-5827.

Gelfand EV, Rosen AB. Diagnosis of Acute Coronary Syndrome. In: Gelfand EV, Cannon C, editors. *Management of Acute Coronary Syndromes.* West Sussex: John Wiley & Sons Ltd; 2009.p.13-34.

Gildener-Leapman N, Ferris RL, Bauman JE. Promising systemic immunotherapies in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2013;49:1089–1096.

Gimeno E, Gómez M, González JR, et al. NT-proBNP: a cardiac biomarker to assess prognosis in non-Hodgkin lymphoma. *Leuk Res.* 2011;35:715–720.

Girn HRS, Orsi NM, Homer-Vanniasinkam S. An overview of cytokine interactions in atherosclerosis and implications for peripheral arterial disease. *Vascular Medicine.* 2007;12: 299-309.

Gistera A, Robertson AK, Andersson J, et al. Transforming growth factor-beta signaling in T cells promotes stabilization of atherosclerotic plaques through an interleukin-17-dependent pathway. *Science translational medicine.* 2013;5(196):196ra00.

Gocheva V, Wang H-W, Gadea BB, et al. IL-4 induces cathepsin protease activity in tumor-associated macrophages to promote cancer growth and invasion. *Genes Dev.* 2010;24(3):241–55.

Gockel I, Dirksen K, Messow CM, et al. Significance of preoperative C-reactive protein as a parameter of the perioperative course and long-term prognosis in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the oesophagus. *World J Gastroenterol.* 2006;12:3746-3750.

Golpe R, Martín-Robles I, Sanjuán-López P, et al. Differences in systemic inflammation between cigarette and biomass smoke-induced COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2017;12:2639–2646.

Gouvea SA, Nogueira MX, Oliveira ZFL, et al. Aspectos clínicos e epidemiológicos do câncer bucal em um hospital oncológico: predomínio de doença localmente avançada. *Rev Bras Cir Cabeça Pescoço.* 2010;39:261-265.

Green VL1, Irune E, Prasai A, et al. Serum IL10, IL12 and circulating CD4+CD25^{high} T regulatory cells in relation to long-term clinical outcome in head and neck squamous cell carcinoma patients. *Int J Oncol.* 2012;40(3):833-839.

Guo Y, Xu F, Lu T, Duan Z, Zhang Z. Interleukin-6 signaling pathway in targeted therapy for cancer. *Cancer Treat Rev.* 2012;38(7):904-910.

Haddad RI, Shin DM. Recent advances in head and neck cancer. *N Engl J Med*. 2008;359:1143–1154.

Hashibe M, Brennan P, Chuang SC, et al. Interaction between tobacco and alcohol use and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18:541-545.

Hashimoto K, Ikeda Y, Korenaga D, et al. The impact of preoperative serum C-reactive protein on the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma *Cancer*. 2005;103:1856-1864.

Hatanaka K, Li XA, Masuda K, et al. Immunohistochemical localization of C-reactive protein-binding sites in human atherosclerotic aortic lesions by a modified streptavidin-biotin-staining method. *Pathol Int*. 1995;45:635-41.

Hefler LA, Concin N, Hofstetter G, et al. Serum C-reactive protein as independent prognostic variable in patients with ovarian cancer. *Clin Cancer Res*. 2008;14:710-714.

Heikkila K, Ebrahim S, Rumley A, et al. Associations of circulating C-reactive protein and interleukin-6 with survival in women with and without cancer: findings from the British Women's Heart and Health Study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*. 2007;16:1155-1159.

Henri C, Heinonen T, Tardif JC. The Role of Biomarkers in Decreasing Risk of Cardiac Toxicity after Cancer Therapy. *Biomark Cancer*. 2016;8:39–45.

Herrmann J, Lerman A. An update on cardio-oncology. *Trends Cardiovasc Med*. 2014;24:285–295.

Hou JL, Gao K, Li M, et al. Increased N-terminal pro-brain natriuretic peptide level predicts atrial fibrillation after surgery for esophageal carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2008;14(16):2582-5.

INCA (Instituto Nacional de Câncer). Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2018.

INCA. Carcinoma Epidermóide da Cabeça e do Pescoço. Revista Brasileira de Cancerologia, v.47, n. 4, p.361-76. 2001.

Jebreel A, Mistry D, Loke D, et al. Investigation of interleukin 10, 12 and 18 levels in patients with head and neck cancer. J Laryngol Otol. 2007;121:246-252.

Jingu K, Nemoto K, Kaneta T, et al. Temporal change in brain natriuretic Peptide after radiotherapy for thoracic esophageal cancer. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2007;69(5):1417-23.

Jinno T, Kawano S, Maruse Y, et al. Increased expression of interleukin-6 predicts poor response to chemoradiotherapy and unfavorable prognosis in oral squamous cell carcinoma. Oncol Rep. 2015;33(5):2161-8.

Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. J. Clin. Oncol. 2006; 24:2137–2150.

Kanda T, Takahashi T. Interleukin-6 and cardiovascular diseases. Jpn Heart J. 2004;45(2):183-93.

Kang H, Kiess A, Chung CH. Emerging biomarkers in head and neck cancer in the era of genomics. Nat Rev Clin Oncol. 2015;12:11–26.

Kaskas NM, Moore-Medlin T, McClure GB, et al. Serum biomarkers in head and neck squamous cell cancer. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg. 2014;140(1):5-11.

Katayama A, Ogino T, Bandoh N, et al. Expression of CXCR4 and its down-regulation by IFN- γ in head and neck squamous cell carcinoma. Clin Cancer Res. 2005;11(8):2937–2946.

Katrukha IA. Human cardiac troponin complex. Structure and functions. *Biochemistry (Mosc)*. 2013;78(13):1447-65.

Kazemi-Bajestani SM, Becher H, Fassbender K, et al. Concurrent evolution of cancer cachexia and heart failure: bilateral effects exist. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2014;5(2):95-104.

Kleemann R, Zadelaar S, Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice. *Cardiovasc res*. 2008;79:360-376.

Koenig W. High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerotic disease: from improved risk prediction to risk-guided therapy. *Int J Cardiol*. 2013;168:5126-34.

Kofler S, Nickel T, Weis M. Role of cytokines in cardiovascular diseases: a focus on endothelial responses to inflammation. *Clin Sci (Lond)*. 2005;108(3):205-213

Kruse AL, Luebbers HT, Grätz KW. C-reactive protein levels: a prognostic marker for patients with head and neck cancer? *Head Neck Oncol*. 2010;2:21.

Kruse AL, Luebbers HT, Grätz KW. C-reactive protein levels: a prognostic marker for patients with head and neck cancer? *Head Neck Oncol*. 2010;2:21.

Kushner I, Rakita I, Kaplan MH. Studies of acute phase protein, II: localization Cx-protein in heart in induced myocardial infarction in rabbits. *J Clin Invest*. 1963;42:286-292.

Kwon M, Kim JW, Roh JL et al. Recurrence and cancer-specific survival according to the expression of IL-4R α and IL-13R α 1 in patients with oral cavity cancer. *Eur J Cancer*. 2015;51(2):177-85.

Kyrgias G, Hajjiioannou J, Tolia M, et al. Intraoperative radiation therapy (IORT) in head and neck cancer a systematic review. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95:e5035.

Lagrand WK, Niessen JWM, Wolbink GJ, et al. C-reactive protein colocalizes with complement in human hearts during acute myocardial infarction. *Circulation*. 1997;95:97-103.

Lagrand WK, Visser CA, Hermens WT, et al. C-reactive protein as a cardiovascular risk factor- more than an epiphenomenon? *Circulation*. 1999;100:96-102.

LaPointe MC. Molecular regulation of the brain natriuretic peptide gene. *Peptides*. 2005; 26:944-956.

Lathers DM, Young MR. Increased aberrance of cytokine expression in plasma of patients with more advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cytokine*. 2004;25:220–8.

Latini R, Masson S, Anand IS, et al. Prognostic value of very low plasma concentrations of troponin T in patients with stable chronic heart failure. *Circulation*. 2007;116:1242–1249.

Lee KK, Shah AS, Mills NL. Diagnosis of myocardial infarction: cardiac troponin I or troponin T? *Clin Biochem*. 2014;47(6):319-20.

Lee MH, Tung-Chieh Chang J, Liao CT, et al. Interleukin 17 and peripheral IL-17-expressing T cells are negatively correlated with the overall survival of head and neck cancer patients. *Oncotarget*. 2018;9(11):9825-9837.

Leemans CR, Braakhuis BJ, Brakenhoff RH. The molecular biology of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(1):9-22.

Li C, Zhao Y, Zhang W et al. Increased prevalence of TH17 cells in the peripheral blood of patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*. 2011;112(1):81–89.

Li FJ, Cai ZJ, Yang F et al. Th17 expression and IL-17 levels in laryngeal squamous cell carcinoma patients. *Acta Oto-Laryngologica*. 2016;136(5):484–490.

Li Y, Zhong X, Cheng G, et al. Hs-CRP and all-cause, cardiovascular, and cancer mortality risk: A meta-analysis, *Atherosclerosis*. 2017;259:75-82.

Li Z, Chen L, Qin Z. Paradoxical roles of IL-4 in tumor immunity. *Cell Mol Immunol*. 2009;6:415–22.

Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery*. 2000;127:117-126.

Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest*. 2007;117:1175-1183.

Linkov F, Lisovich A, Yurkovetsky Z, et al. Early detection of head and neck cancer: development of a novel screening tool using multiplexed immunobead-based biomarker profiling. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16:10210-7.

Lothaire P, de Azambuja E, Dequanter D, et al. Molecular markers of head and neck squamous cell carcinoma: promising signs in need of prospective evaluation. *Head Neck*. 2006;28(3):256-69.

Lotzniker M, Covini N, Finazzi S, et al. NT -pro BNP and unstable angina. *RiMei/IJLaM*. 2005;2:130-134.

Lucey DR, Clerici M, Shearer GM. Type 1 and type 2 cytokine dysregulation in human infectious, neoplastic, and inflammatory diseases. *Clin Microbiol Rev*. 1996;9:532–562.

Mackesy DZ, Goalstone ML. ERK5: novel mediator of insulin and TNF-stimulated VCAM-1 expression in vascular cells. *J Diabetes*. 2014;6:595–602.

Mahmoud FA, Rivera NI. The role of C-reactive protein as a prognostic indicator in advanced cancer. *Curr Oncol Rep*. 2002;4(3):250–255.

Malachias MVB, Souza WKSB, Plavnik FL, et al. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. *Arq Bras Cardiol* 2016;107(3Supl.3):1-83

Mantovani A, Allavena P, Sica A, et al. Cancer-related inflammation. *Nature*. 2008;454:436-444.

Maries L, Manitiu I. Diagnostic and prognostic values of B-type natriuretic peptides (BNP) and N-terminal fragment brain natriuretic peptides (NT-pro-BNP). *Cardiovasc J Afr*. 2013;24(7):286-9.

Martignoni ME, Kunze P, Hildebrandt W, et al. Role of mononuclear cells and inflammatory cytokines in pancreatic cancer-related cachexia. *Clin. Cancer Res*. 2005;11:5802–5808.

Matarazzo H, Lobo TC, de Melo NVM, Loggetto S, et al. 2029: ano em que o câncer será a primeira causa de morte no Brasil. *Braz J. Oncol*. 2017;13(Supl):1-402, pág. 1.

Mazibrada J, De Andrea M, Rittà M, et al. In vivo growth inhibition of head and neck squamous cell carcinoma by the Interferon-inducible gene IFI16. *Cancer Lett*. 2010;287(1):33-43.

McMahon S, Chen AY. Head and neck cancer. *Cancer and Metastasis Rev*. 2003;22:21-24.

Mehra VC, Ramgolam VS, Bender JR. Cytokines and cardiovascular disease. *J Leukoc Biol*. 2005;78(4):805-818.

Meyers CA, Albitar M, Estey E. Cognitive impairment, fatigue, and cytokine levels in patients with acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome. *Cancer*. 2005;104:788-793.

Minami M, Matsumoto S, Horiuchi H. Cardiovascular side-effects of modern cancer therapy. *Circ J*. 2010;74:1779-1786.

Nagele P, Rao LK, Penta M, et al. Postoperative myocardial injury after major head and neck cancer surgery. *Head Neck*. 2011;33:1085–1091.

Nakou ES, Liberopoulos EN, Milionis HJ, Elisaf MS. The role of C-reactive protein in atherosclerotic cardiovascular disease: an overview. *Curr Vasc Pharmacol*. 2008;6(4):258–270.

Naya M, Tsukamoto T, Morita K, et al. Plasma interleukin-6 and tumor necrosis factor- α can predict coronary endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Hypertens. Res*. 2007;30:541–548.

Nouraei SAR, Al-Yaghchi C, Sandhu GS, et al. Incidence and significance of myocardial injury after surgical treatment of head and neck cancer. *Laryngoscope*. 2007;117:1581–1587.

Ohsaki Y, Gross AJ, Le PT, et al. Human small cell lung cancer cells produce brain natriuretic peptide. *Oncology*. 1999;56:155–9.

Okoye CC, Bucher J, Tatsuoka C, et al. Cardiovascular risk and prevention in patients with head and neck cancer treated with radiotherapy. *Head Neck*. 2017;39:527–532.

Oliveira CMB, Sakata RK, Issy AM, et al. Cytokines and pain. *Rev Bras Anesthesiol*. 2011;61:260-265.

Oliveira KG, von Zeidler SV, Podestá JR, et al. Influence of pain severity on the quality of life in patients with head and neck cancer before antineoplastic therapy. *BMC Cancer*. 2014;14:39.a

Oliveira KG, von Zeidler SV, Lamas AZ, et al. Relationship of inflammatory markers and pain in patients with head and neck cancer prior to anticancer therapy. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2014;47(7):600-604.b

Oliveira MC, Soares RC, Pinto LP, et al. High-risk human papillomavirus (HPV) is not associated with p53 and bcl-2 expression in oral squamous cell carcinomas. *Auris Nasus Larynx*. 2009;36(4):450-456.

Oluleye OW, Folsom AR, Nambi V, et al. Troponin T, B-type natriuretic peptide, C-reactive protein, and cause-specific mortality. *Ann Epidemiol*. 2013;23(2):66-73.

Pasceri V, Chang J, Willerson JT, et al. Modulation of c-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation*. 2001;103:2531–2534.

Pavo N, Raderer M, Hülsmann M, et al. Cardiovascular biomarkers in patients with cancer and their association with all-cause mortality. *Heart*. 2015;101:1874–1880.

Peter F, Wittekindt C, Finkensieper M, et al. Prognostic impact of pretherapeutic laboratory values in head and neck cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2013;139:171-178.

Popat J, Rivero A, Pratap P, et al. What is causing extremely elevated amino terminal brain natriuretic peptide in cancer patients? *Congest Heart Fail*. 2013;19:143–8.

Pries R, Nitsch S, Wollenberg B. Role of cytokines in head and neck squamous cell carcinoma. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2006;6:1195-203.

Raschi E, Vasina V, Ursino MG, et al. Anticancer drugs and cardiotoxicity: Insights and perspectives in the era of targeted therapy. *Pharmacol Ther*. 2010;125:196-218.

Rave-Fränk M, Tehrany N1, Kitz J, et al. Prognostic value of CXCL12 and CXCR4 in inoperable head and neck squamous cell carcinoma. *Strahlenther Onkol*. 2016;192(1):47-54.

Richtsmeier WJ, Koch WM, McGuire WP, et al. Phase I-II study of advanced head and neck squamous cell carcinoma patients treated with recombinant human interferon gamma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surgery*. 1990;116:1271.

Ridker PM, Haughey P. Prospective studies of C-reactive protein as a risk factor for cardiovascular disease. *J Investig Med*. 1998;46:391-395.

Riedel F, Adam S, Feick P, et al. Expression of IL-18 in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Mol Med*. 2004;13:267–272.

Rose BS, Jeong JH, Nath SK, et al. Population-based study of competing mortality in head and neck cancer. *J Clin Oncol*. 2011;29:3503–3509.

Rosenzweig SD, Holland SM. Defects in the interferon- γ and interleukin-12 pathways. *Immunol. Rev*. 2005;203:38-47.

Rothenberg SM, Ellisen LW. The molecular pathogenesis of head and neck squamous cell carcinoma. *The Journal of Clinical Investigation*. 2012;122(6):1951-1957.

Salazar-Onfray F, López MN, Mendoza-Naranjo A. Paradoxical effects of cytokines in tumor immune surveillance and tumor immune escape. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2007;18:171–82.

Sandri MT, Salvatici M, Cardinale D, et al. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide after high-dose chemotherapy: a marker predictive of cardiac dysfunction? *Clin. Chem*. 2005;51(8):1405–1410.

Sato J, Ohuchi M, Abe K, et al. Correlation between salivary interleukin-6 levels and early locoregional recurrence in patients with oral squamous cell carcinoma: preliminary study. *Head Neck*. 2013;35(6):889-894.

Saunders JT, Nambi V, de Lemos JA, et al. Cardiac troponin T measured by a highly sensitive assay predicts coronary heart disease, heart failure, and mortality in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circulation*. 2011;123(13):1367-1376.

Schiegnitz E, Kämmerer PW, Schön H, et al. Proinflammatory cytokines as serum biomarker in oral carcinoma-A prospective multi-biomarker approach. *J Oral Pathol Med*. 2018;47(3):268-274.

Schmidt, H. et al. The development of a liquid biopsy for head and neck cancers. *Oral Oncology*. 2016;61:8–11.

Scott MG. When do new biomarkers make economic sense? *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 2010;242:90–95.

Senkus E, Jassem J. Cardiovascular effects of systemic cancer treatment. *Cancer Treat Rev.* 2011;37:300–311.

Serapinas D, Narbekovas A, Juskevicius J, Sakalauskas R. Systemic inflammation in COPD in relation to smoking status. *Multidisciplinary Respiratory Medicine.* 2011;6(4):214-219.

Seruga B, Zhang H, Bernstein LJ, et al. Cytokines and their relationship to the symptoms and outcome of cancer. *Nat Rev Cancer.* 2008;8:887-899.

Smith E, Prasad KM, Butcher M, et al. Blockade of interleukin- 17A results in reduced atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation.* 2010;121(15):1746-55.

Sommer C, White F. Cytokines, Chemokines, and Pain, In: Beaulieu P, Lussier D, Porreca F, et al. *Pharmacology of Pain.* 1st Ed, Seattle, IASP Press, 2010;279-302.

Sorrentino MF, Kim J, Foderaro AE, Truesdell AG. 5-fluorouracil induced cardiotoxicity: review of the literature. *Cardiol J.* 2012;19(5):453-8.

Sparano A, Lathers DM, Achille N, et al. Modulation of Th1 and Th2 cytokine profiles and their association with advanced head and neck squamous cell carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004;131: 573–576.

Szkandera J, Gerger A, Liegl-Atzwanger B, et al. Validation of the prognostic relevance of plasma C-reactive protein levels in soft-tissue sarcoma patients. *Br J Cancer.* 2013;109:2316–2322.

Tai SF, Chien HT, Young CK, et al. Roles of preoperative C-reactive protein are more relevant in buccal cancer than other subsites. *World J Surg Oncol.* 2017;15(1):47.

Taleb S, Romain M, Ramkhelawon B, et al. Loss of SOCS3 expression in T cells reveals a regulatory role for interleukin-17 in atherosclerosis. *J Exp Med*. 2009;206(10):2067-77.

Tanni SE, Pelegrino NR, Angeleli AY, et al. Smoking status and tumor necrosis factor-alpha mediated systemic inflammation in COPD patients. *J Inflamm (Lond)*. 2010;7:29.

Tchernof A, Nolan A, Sites CK, et al. Weight loss reduces c-reactive protein levels in obese postmenopausal women. *Circulation*. 2002;105:564–569.

Thiounn N, Mathiot C, Dorval T, et al. Lack of efficacy of low dose subcutaneous recombinant interleukin-2 and interferon alpha in the treatment of metastatic renal cell carcinoma. *Br J Urol*. 1995;75:586–589.

Turner EM, Krenn-Pilko S, Langsenlehner U, et al. The elevated C-reactive protein level is associated with poor prognosis in prostate cancer patients treated with radiotherapy. *Eur J Cancer*. 2015;51:610–619.

Totsune K, Takahashi K, Murakami O, et al. Immunoreactive brain natriuretic peptide in human adrenal glands and adrenal tumors. *Eur J Endocrinol*. 1996;135:352–356.

Tousoulis D, Oikonomou E, Economou EK, et al. Inflammatory cytokines in atherosclerosis: current therapeutic approaches. *European Heart Journal*. 2016;37(22):1723–1732.

Tuñón J, Higuera J, Tarín N, et al. N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide is associated with a future diagnosis of cancer in patients with coronary artery disease. *PLoS One*. 2015;10:e0126741.

Vesely DL. Which of the cardiac natriuretic peptides is most effective for the treatment of congestive heart failure, renal failure and cancer? *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2006;33:169-176.

Vesely DL. Cardiac and renal hormones: anticancer effects in vitro and in vivo. *J Investig Med*. 2009;57:22-28

Volp ACP, Alfenas RCG, Costa NMB, et al. Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2008;52(3):537-549.

Wallace TW, Abdullah SM, Drazner MH, et al. Prevalence and determinants of troponin T elevation in the general population. *Circulation.* 2006;113:1958–1965.

Wang Z, Lee J, Zhang Y, et al. Increased Th17 cells in coronary artery disease are associated with neutrophilic inflammation. *Scand Cardiovasc J.* 2011;45(1):54-61.

WHO (World Health Organization). Global Action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020. Geneva, 2013.

WHO (World Health Organization) 2000 [Online]. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series 894. Geneva: World Health Organization, 2000. 253 p. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_894.pdf/ Acesso em: 14/05/2018.

Willerson JT, Ridker PM. Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation.* 2004;109:2-10.

Xu B, Shu Y, Liu P. INF- γ sensitizes head and neck squamous cell carcinoma cells to chemotherapy-induced apoptosis and necroptosis through up-regulation of Egr-1. *Histol Histopathol.* 2014;29(11):1437-43.

Yao X, Huang J, Zhong H, et al. Targeting interleukin-6 in inflammatory autoimmune diseases and cancers. *Pharmacol Ther.* 2014;141(2):125-39.

Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL: Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol.* 2001;158:1039-1051.

Yeh ET, Bickford CL. Cardiovascular complications of cancertherapy: Incidence, pathogenesis, diagnosis, and management. *J Am Coll Cardiol.* 2009;53:2231-2247.

Young MR. Th17 Cells in Protection from Tumor or Promotion of Tumor Progression. J Clin Cell Immunol. 2016 Jun;7(3):431

Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation, and pain. Int Anesthesiol Clin. 2007;45:27-37.

Zhao Z, Wu Y, Cheng M, et al. Activation of Th17/Th1 and Th1, but not Th17, is associated with the acute cardiac event in patients with acute coronary syndrome. Atherosclerosis. 2011; 217(2): 518-24.

8. ANEXOS

8.1 ANEXO 1: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE/UFES



PROJETO DE PESQUISA

Título: AVALIAÇÃO DA DOR E DA QUALIDADE DE VIDA DOS PACIENTES COM CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CABEÇA E PESCOÇO

Área Temática:

Área 9. A critério do CEP.

Versão: 3

CAAE: 06051212.3.0000.5060

Pesquisador: sonia alves gouvea

Instituição: Centro de Ciências da Saúde ((CCS-UFES))

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 99.242

Data da Relatoria: 26/09/2012

Apresentação do Projeto:

PESQUISA PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA E CONTROLE DA DOR EM INDIVÍDUOS COM CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CABEÇA E PESCOÇO EM PARTICIPANTES DO PROGRAMA DE PREVENÇÃO E DETECÇÃO PRECOCE DE CÂNCER DE BOCA HOSPITAL SANTA RITA DE CÁSSIA-SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE/ES E NO AMBULATÓRIO HUCAM.

ESTUDO OBSERVACIONAL PARA AVALIAR O PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO COM DOIS GRUPOS UM SAUDÁVEL (CONTROLE) AVALIADO EM UM MOMENTO - CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS E QUESTIONÁRIO EORTC QLQ-C30 (GENÉRICO DE QUALIDADE DE VIDA). SERÁ REALIZADA COLETA DE SANGUE PARA AVALIAR FATORES PRÓ-INFLAMATÓRIOS. O GRUPO DE PORTADORES DE CÂNCER SERÃO AVALIADOS EM DOIS MOMENTOS-1ª CONSULTA E RETORNO (15 A 30 DIAS APÓS A 1ª CONSULTA). SERÁ APLICADO O QUESTIONÁRIO EORTC QLQ-C30 E O EORTC QLQ-H7N35, SERÁ FEITA COLETA DE SANGUE PARA AVALIAR FATORES PRÓ-INFLAMATÓRIOS E FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA E PROTEÍNA C REATIVA E SUA CORRELAÇÃO COM A DOR.

Objetivo da Pesquisa:

AVALIAR O CONTROLE DA DOR E SEU IMPACTO NA QUALIDADE DE VIDA DE INDIVÍDUOS COM CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CABEÇA E PESCOÇO.
AVALIAR A EFETIVIDADE DO PROTOCOLO DE CONTROLE DA DOR E SEU IMPACTO SOBRE A QUALIDADE DE VIDA
QUANTIFICAR OS MARCADORES E SUA CORRELAÇÃO COM A DOR
IDENTIFICAR OS PROBLEMAS RELACIONADOS A MEDICAMENTOS NO CONTROLE DA DOR

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS- DURANTE A COLETA DE SANGUE
BENEFÍCIOS - MAIOR CONHECIMENTO SOBRE ASPECTOS CLÍNICOS DAS PESSOAS COM DOR

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

PESQUISA RELEVANTE, METODOLOGIA PROPOSTA ATENDE AOS OBJETIVOS PROPOSTOS

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

UF: ES

Município: VITÓRIA

Telefone: (27)3335-7211

CEP: 29.040-091

E-mail: cep.ufes@hotmail.com ; cep@ccs.ufes.br

CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE/UFES



Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE ADEQUADO
FOLHA DE ROSTO - OK

Recomendações:

Não existem pendências
Recomendo aprovação do projeto

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não existem pendências

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

VITORIA, 17 de Setembro de 2012

Assinado por:
Adauto Emmerich Oliveira

Endereço: Av. Marechal Campos 1468
Bairro: S/N
UF: ES Município: VITORIA
Telefone: (27)3335-7211

CEP: 29.040-091

E-mail: cep.ufes@hotmail.com ; cep@ccs.ufes.br

8.2 ANEXO 2: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TCLE- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA CASOS

Estudo: Avaliação da dor e da qualidade de vida dos pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço

INTRODUÇÃO

Você está sendo convidado a participar desta pesquisa para avaliar a qualidade de vida e o nível plasmático de citocinas de pessoas que vivenciam a dor oncológica. Nosso objetivo é avaliar o impacto do câncer, da dor e do uso dos medicamentos para o tratamento da sua dor, caso tenha, sobre a sua qualidade de vida e as citocinas, que são substâncias que podem causar dor. Sua participação neste estudo é voluntária. Você pode se recusar a participar ou retirar-se do estudo a qualquer momento, sem que isso afete o tratamento médico que você está recebendo. Por favor, leia cuidadosamente este formulário de consentimento e esclareça com o coordenador da pesquisa no hospital quaisquer dúvidas que você possa ter sobre o estudo antes de assinar este termo.

EXPLICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

Se você concordar em participar deste estudo, será solicitado que você faça uma entrevista e forneça amostras de sangue. Além disso, nós pediremos sua permissão para coletar informações relevantes do seu prontuário médico. Se você decidir não responder, seja a uma questão específica ou a todas as informações, não sofrerá nenhuma penalidade. Você pode participar da entrevista, mas se recusar a fornecer as amostras biológicas (sangue).

Questionário:

Um entrevistador virá aplicar o questionário enquanto você estiver no hospital. Serão feitas várias perguntas sobre diferentes aspectos de sua vida: sua saúde física, sua vida emocional, seu meio-ambiente, sua idade, a intensidade da sua dor e características dela etc. Você levará, em média, 20 minutos para responder o questionário.

Coleta de sangue:

Será solicitado que você doe uma amostra de sangue enquanto estiver no hospital. Uma enfermeira treinada retirará aproximadamente 5 ml de sangue de uma veia do seu braço, da maneira habitual.

ANÁLISE DE AMOSTRA BIOLÓGICA

O sangue será enviado a laboratório para que possamos saber quanto das substâncias chamadas citocinas tem no seu sangue. As citocinas estão relacionadas com a sensação de dor e, provavelmente, ao crescimento do tumor. Concordando com este estudo você estará autorizando que estas amostras sejam armazenadas por um período de 05 anos, podendo ser solicitada prorrogação deste prazo, para serem utilizadas em investigações futuras. Toda nova pesquisa a ser realizada utilizando estas amostras deverá ser submetida à nova aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

NOTIFICAÇÃO, CUSTO E COMPENSAÇÃO

As amostras biológicas obtidas serão utilizadas apenas para fins de investigação. Qualquer material que não seja imediatamente utilizado permanecerá armazenado. Você tem o direito de saber, a qualquer momento, dos resultados de exames realizados em sua amostra, tendo ou não aplicabilidade clínica. Não haverá nenhum custo financeiro para você participar deste estudo e não há nenhuma compensação ou pagamento pelo preenchimento do questionário e fornecimento da amostra biológica.

DESCONFORTO E RISCOS POTENCIAIS

Durante a coleta do sangue, você pode sentir um pouco de dor ou apresentar um hematoma (mancha roxa) no braço, no local onde for realizada a coleta. É possível, mas não provável, que você apresente inchaço ou sangramento no local da punção. Pode também ocorrer um mal-estar relacionado ao medo de agulhas. É improvável que ocorram danos físicos a partir da coleta de sangue. Se estes danos ocorrerem, você será imediatamente tratado pelos profissionais do hospital.

BENEFÍCIOS POTENCIAIS

O benefício esperado com o estudo está relacionado ao maior conhecimento sobre aspectos sócio-demográficos e clínicos das pessoas com dor oncológica e sobre o valor terapêutico dos remédios usados para o controle da sua dor, pois acreditamos que estes aspectos têm influenciado a sua vida, já que a sua qualidade de vida pode estar relacionada ao estágio da doença e aos aspectos acima citados.

Desta forma, estas informações poderão auxiliar os profissionais de saúde a conhecerem melhor os seus pacientes e utilizarem tratamentos mais eficientes para o controle da sua dor, e assim, melhorar a qualidade da assistência que prestam e a sua qualidade de vida. Sua participação é muito importante para o sucesso desta pesquisa e também poderá trazer benefício às gerações futuras.

GARANTIA DA CONFIDENCIALIDADE

Será realizada a codificação de todo material e informação obtidos, objetivando garantir o sigilo e o respeito à confidencialidade. As informações serão usadas apenas para fins científicos, em conformidade com a legislação do Brasil. Ninguém, exceto os membros da equipe de pesquisa, terá acesso às suas respostas e aos resultados de testes. Seu empregador (patrão) não terá acesso a quaisquer resultados ou informações que você nos fornecer. A amostra biológica não será etiquetada com o seu nome. Seu nome não será divulgado em nenhum relatório ou trabalho científico.

DIREITO A SE RETIRAR DO ESTUDO

Você pode se recusar a participar e/ou retirar o seu consentimento e interromper a participação a qualquer momento, sem nenhuma penalização ou perda de algum benefício que tenha recebido anteriormente. Se você inicialmente decidir dar seu consentimento para o armazenamento das amostras biológicas para pesquisas futuras, mas depois mudar de idéia e enviar notificação por escrito para o coordenador da pesquisa Dra. Sonia Alves Gouvêa, professora do **Departamento de Ciências Fisiológicas, CCS-UFES**, todos os remanescentes da sua amostra biológica serão então destruídos. A sua decisão sobre esse assunto não afetará o seu tratamento médico ou seu emprego.

CERTIFICAÇÃO

Eu li a explicação sobre o estudo e tive a oportunidade de discutir e esclarecer minhas dúvidas. Ao concordar em participar deste estudo, eu não renuncio a nenhum direito que possa ser relativo ao acesso e divulgação dos meus dados. Eu concordo em participar das partes do estudo onde está assinalado "sim" e recuso-me a participar das partes do estudo onde está assinalado "não". Declaro que recebi uma cópia deste termo de consentimento.

SIM NÃO Parte do estudo

☐ ☐ Entrevista
☐ ☐ Coleta e teste do sangue
☐ ☐ Acesso aos prontuários médicos



Assinatura do participante Data

Assinatura da testemunha Data

Nome

Nome da testemunha

Nome e assinatura do Pesquisador

Responsável _____ Data: _____

Nós agradecemos a sua colaboração nesse importante projeto de pesquisa. Se você tiver dúvidas sobre este estudo, você pode telefonar para a Dra. Sonia Alves Gouvêa, professora do Departamento de Ciências Fisiológicas, CCS-UFES, no telefone (27) 3335-7333 (email: gouveasa@yahoo.com.br) ou através do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP: Telefone - 3335-7211 e E-mail: www.ccs.ufes.br/cep ou

8.3 ANEXO 3: ARTIGO CIENTÍFICO SUBMETIDO.

Prognostic value of cardiovascular biomarkers in head and neck squamous cell carcinoma

Karine Gadioli de Oliveira¹ MSc, Tadeu Uggere de Andrade² PhD, Jose Roberto Vasconcelos Podestá³ MD, Sandra Lucia Ventorin Von Zeidler⁴ PhD, Nazare Souza Bissoli¹ PhD, Sonia Alves Gouvea¹ PhD

¹Department of Physiological Sciences, Health Sciences Center, Federal University of Espírito Santo, Vitória, ES, Brazil.

²Department of Pharmaceutical Sciences, University of Vila Velha, Vila Velha, ES, Brazil.

³Head and Neck Division, Santa Rita de Cássia Hospital, Vitória, ES, Brazil.

⁴Department of Pathology, Health Sciences Center, Federal University of Espírito Santo, Vitória, ES, Brazil.

Running title: Prognostic biomarkers in HNSCC.

Corresponding author: Sonia A. Gouvea, PhD, Department of Physiological Sciences, Health Sciences Center, Federal University of Espírito Santo. Avenida Marechal Campos, 1456, Maruípe, Vitória, Espírito Santo, Brasil, Postal code: 29043-090, Tel.: +55 27 3335-7342/ 997033975, Fax: +55 27 3335-7330

E-mail: gouveasa@yahoo.com.br

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgments: The authors would like to thank the medical team of Santa Rita de Cássia Hospital, Vitória, ES, Brazil, for their assistance with the collection of the data.

Funding: This study was supported by a grant from the Fundação Estadual de Amparo à Pesquisa do Estado do Espírito Santo (grant number 67665144) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

Abstract

Objectives: Patients with head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) have an elevated risk of non-HNSCC mortality by cardiovascular disease. In this study, we examined the prognostic significance of pretreatment serum C-reactive protein (CRP), cardiac troponin T (cTnT) and N-terminal probrain natriuretic peptide (NT-proBNP) levels on all-cause mortality risk after three years of diagnosis of HNSCC.

Study Design: Prospective case series.

Methods: Data from 118 consecutive patients with HNSCC, treated between 2012 and 2015, were evaluated prospectively. The impact of CRP, high-sensitive (hs)-cTnT and NT-proBNP levels on the 3-year overall survival was estimated using the Kaplan–Meier method and Cox proportional hazard models.

Results: During the 36-month follow-up, 37 patients (31.35%) died, and the multivariate analysis revealed that elevated CRP (Hazard ratio: 3.71, 95% CI: 1.44 – 9.53, $P = 0.007$) and NT-proBNP levels (Hazard ratio: 5.04, 95% CI: 2.02 – 12.55, $P = 0.001$) are associated with a worse prognosis in patients with HNSCC, independent of age, sex, smoking status, alcohol consumption, TNM classification, tumor site, body mass index (BMI), systolic blood pressure (SBP), and treatment modality (except for radiotherapy). Hs-cTnT did not influence the prognosis of patients with

HNSCC, but it was correlated with TNM classification and SBP. CRP was significantly correlated with BMI and TNM classification; NT-proBNP was significantly correlated with SBP and hs-cTnT.

Conclusions: In this study, the pretreatment CRP and NT-proBNP levels were identified as independent prognostic markers for a poor clinical outcome after three years from diagnosis of HNSCC.

Level of evidence: 4

Keywords: Head and neck squamous cell carcinoma; C-reactive protein; NT-proBNP; Troponin T; Cardiovascular disease.

Introduction

Head and neck cancer is the sixth most common cancer worldwide;¹ the vast majority are squamous cell carcinomas originating from the mucosa of the upper aerodigestive tract that arise in the oral cavity, pharynx and larynx. Tobacco and alcohol consumption can produce mutagenic effects on the upper aerodigestive tract and are among the most important known risk factors for the development of head and neck squamous cell carcinomas (HNSCCs).^{2,3}

Treatment options for this type of cancer are variable and depend on the size and location of the primary tumor, lymph node status, presence or absence of distant metastases, the patient's ability to tolerate treatment, and the patient's desires.⁴ Despite advances in therapy, the five-year survival rate for HNSCC has not improved significantly over the past several decades, and it remains at approximately 50%. Additionally, HNSCC is the eighth most prevalent cancer that is associated with a poor prognosis.⁵

The inclusion of new drugs and more aggressive regimens for the treatment of cancer improved the survival of patients with malignancy, but the prevalence of long-term cardiac effects for those therapies has also increased.⁶ The cardiac side effects of these drugs have been shown to affect the quality of life and overall survival of these patients, independent of the prognosis related

to cancer.⁶ Unfortunately, the prognosis of cancer therapy-induced cardiomyopathy may be worse than the malignancy for which it was indicated.⁷

Patients with HNSCC have an elevated risk of non-HNSCC mortality; the most frequent causes of noncancer mortality are cardiovascular disease (28%), chronic obstructive pulmonary disease (8.5%), and cerebrovascular disease (5.6%).⁸ Studies have suggested a possible role for biomarkers as important indicators of survival and treatment decision for HNSCC.⁹⁻¹¹ In addition, measurement of cardiospecific biomarkers can be a valid diagnostic tool for early identification, assessment, and monitoring of cardiotoxicity.¹²

C-reactive protein (CRP), an acute-phase marker of inflammation, is extensively studied in chronic inflammation and cancers.^{13,14} It has been reported that elevated CRP is also associated with cardiovascular events^{15,16} and low survival rates in patients with breast, ovarian, oral, oesophageal and hepatocellular cancer.¹⁷⁻²¹

Cardiac troponin T (cTnT) is a protein that is present in the myocardial cells and is a specific and sensitive marker of myocardial injury, with both high diagnostic and prognostic value.²²

Natriuretic peptides, such as N-terminal probrain natriuretic peptide (NT-proBNP), have been found to be sensitive in the detection of cardiac functional impairment;¹² it is synthesized and secreted by cardiomyocytes in response to increased myocardial wall stress.²³

Previous studies have shown the involvement of CRP, cTnT and NT-proBNP in cardiotoxicity associated with anticancer drugs, such as survivorship.^{6,10,12} However, few studies have evaluated the predictive value of these markers for the detection of future cardiovascular dysfunction and mortality in cancer, including in patients with cancer of the head and neck following oncologic therapy.

The present study examined the prognostic significance of pretreatment serum CRP, cTnT and NT-proBNP levels on all-cause mortality risk three years after the diagnosis of HNSCC.

Materials and methods

Patients

This study was approved by our ethical committee (UFES n° 99.242/2012). In addition, the research was carried out according to The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki), and all the patients involved have signed an informed consent form before taking part in it.

This prospective analysis included data from 118 consecutive patients with primary HNSCC who were treated at the Santa Rita de Cassia Hospital, ES, Brazil, between 2012 and 2015. Inclusion criteria were patients with untreated HNSCC aged over 18 years of both genders. The exclusion criteria were patients who had already been treated for cancer and patients who had recurrent malignant disease. All patient information was collected and recorded before any treatment. Clinical data (gender, age, tumor location, TNM classification according to The American Joint Committee on Cancer 7th Edition,²⁴ treatment and mortality in three years) were obtained from medical records.

Finally, we assessed body mass index (BMI) by measuring weight and height (kg/m^2), systolic blood pressure (SBP) by using the validated digital blood pressure measuring device, Omron HEM-705 CP (Omron Healthcare, INC. Illinois, USA), and smoking and drinking behavior for all participants at diagnosis.

Serum sample collection and analysis

Ten millilitre venous blood samples were collected at the diagnosis of HNSCC and centrifuged at 4°C and 1000 g for 15 min. The sera were immediately stored at -80 °C until analysis.

Serum samples were obtained to determine CRP, high-sensitive (hs)-cTnT and NT-proBNP concentrations using Roche kits on a Roche Cobas 6000 automated analyser (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). The serum concentrations of CRP were assayed by a commercial immunoturbidimetric method using a CRPL3 kit (Roche Diagnostics). Elevation of serum CRP level was defined at a threshold point of ≥ 5.0 mg/L. An electrochemiluminescence sandwich immunoassay was used both for measuring serum hs-cTnT and serum NT-proBNP. The median hs-cTnT (7.6 pg/mL) was used as the threshold, while a clinically relevant threshold was used for NT-proBNP (125 pg/mL). All experiments were carried out according to the manufacturer's instructions.

Statistical analysis

Quantitative data were presented as the means \pm standard deviation (SD) and categorical data as counts and percentages. The distribution of the data was analysed with Kolmogorov–Smirnov test. The Mann-Whitney test was used for two independent samples, and qualitative variables were compared by chi-square test when appropriate. Univariate and multivariate Cox proportional hazard regression methods were used to evaluate the association between death and potential independent factors. In univariate Cox regression analysis, the following variables were included: age, sex, BMI (kg/m^2), smoking / alcohol status, SBP, TNM classification, treatment, tumor site, and biomarkers.

Variables with $P < 0.05$ were entered into the multivariate Cox regression analysis to assess which variables were independently associated with death. The 3-year overall survival (OS) was calculated from the time (in months) of diagnoses to death from any cause. Survival was estimated using the Kaplan–Meier method and compared by the log-rank test. Hazard ratios (HRs) estimated from the Cox analysis were reported as relative risks with corresponding 95% confidence intervals

(CIs). Furthermore, Spearman's correlation coefficients were used to examine associations between biomarkers and clinicopathological parameters. The statistical analyses were performed using Statistical Package for Social Sciences version 20.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). A two-sided $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

The patients' clinical characteristics are described in Table 1. The most common primary site was the oral cavity, followed by the oropharynx, larynx, and hypopharynx. Approximately, 60% of patients had an advanced stage of the disease (III + IV), and 55.9% and 44.9% of patients had a history of smoking or alcohol consumption, respectively. There were differences in survival according to TNM classification, tumor size and cancer treatment. There was a significant difference ($P = 0.03$) between the mean value of the BMI in patients who died and those who survived. During the 36-month follow-up, 37 patients (31.35%) died, and the mean 3-year OS was 30.6 months (95% IC: 28.8 – 32.5).

As shown in Figure 1A, the 3-year OS of the CRP elevated group was significantly worse than that of the normal CRP group ($P = 0.03$); the 3-year OS rates were 51.6% and 72.6%, respectively. The NT-proBNP elevated group also had a significantly worse 3-year OS compared with that of the normal NT-proBNP group ($P = 0.02$) (Figure 1B); the 3-year OS rates were 47.4% and 70.5%, respectively. No difference was found in 3-year OS between the normal hs-cTnT group and elevated hs-cTnT group ($P = 0.62$) (Figure 1C).

We examined the factors affecting the 3-year OS using univariate and multivariate analysis (Table 2). In univariate analysis, advanced stage of disease (HR: 2.16, 95% CI: 1.06 – 4.38, $P = 0.032$), CRP (HR: 2.02, 95% CI: 1.03 – 3.95, $P = 0.039$), and NT-proBNP (HR: 2.31, 95% CI: 1.07 – 5.03, $P = 0.033$) were all significantly associated with a worse prognosis, except for radiotherapy (HR: 0.06, 95% CI: 0.01 – 0.48, $P = 0.008$), and BMI (HR: 0.91, 95% CI: 0.84 – 0.99, $P = 0.032$).

To exclude possible confounding factors, a multivariate analysis was performed, and the results revealed that CRP (HR: 3.71, 95% CI: 1.44 – 9.53, $P = 0.007$), NT-proBNP (HR: 5.04, 95% CI: 2.02– 12.55, $P = 0.001$), and radiotherapy (HR: 0.03, 95% CI: 0.004 – 0.39, $P = 0.006$) remained as independent prognostic indicators for 3-year OS.

Spearman correlations (Table 3) revealed positive associations of CRP levels with BMI and TNM classification ($P = 0.01$ and $P = 0.02$, respectively). NT-proBNP levels were positively correlated with SBP and hs-cTnT levels ($P = 0.04$ and $P = 0.00$, respectively). In turn, hs-cTnT levels were negatively correlated with TNM classification ($P = 0.01$) and were positively correlated with SBP ($P = 0.01$).

Discussion

In the present study, we demonstrated that elevated CRP and NT-proBNP levels are associated with a worse prognosis in patients with HNSCC, independent of age, sex, smoking and alcohol consumption, TNM classification, tumor site, BMI, SBP, and treatment modality (except for radiotherapy). Additionally, the inflammatory marker CRP was significantly correlated with the BMI and TNM classification, and NT-proBNP was significantly correlated with SBP and hs-cTnT. Although cTnT did not influence the prognosis of patients with HNSCC, it was correlated with the TNM classification and SBP.

The presence of a systemic inflammatory response is associated with a worse prognosis in several types of malignancies, and this condition can also increase the risk of cardiovascular events in cancer patients.²⁵ Other studies have already suggested the involvement of increased CRP level with clinical outcome in cancer patients,^{26,27} including head and neck cancer patients,^{19,28,29} and in our study, CRP was an independent prognostic factor of smoking and BMI, factors that influence CRP levels.^{30,31}

NT-proBNP levels in patients with cancer have also been evaluated, showing that non-Hodgkin lymphoma patients with elevated NT-proBNP levels prior to chemotherapy had a higher risk of cardiac toxicity with heart failure progression and death from all causes;³² however, the prognostic value of this marker had not been investigated in HNSCC prior to anticancer therapy. A recent study hypothesized the relationship between cancer and BNP, showing that BNP levels were elevated in cancer patients, which is likely due to cancer-related inflammation.³³ In cardiomyocytes, BNP synthesis has been shown to be upregulated at the transcriptional level by inflammatory cytokines;³³ it is well known that the HNSCC microenvironment is characterized by an excess of immunosuppressive cytokines, including interleukin-6.³⁴ Moreover, NT-proBNP was associated with a future diagnosis of cancer in patients with coronary artery disease.³⁵

To the best of our knowledge, there have been no previous reports showing the evaluation of hs-cTnT levels in HNSCC prior to anticancer therapy. Nagele et al.³⁶ found that head and neck cancer patients with elevated levels of cTnI after surgical treatment had a 2-fold increased risk of death during the first year after surgery, but the long-term survival at 6 years was not different between groups. In our study, the levels of hs-cTnT did not influence the overall survival rate at 3 years. Nouraei et al.³⁷ also evaluated cTnI in head and neck cancer patients after surgery and found cTnI elevation in 25% of patients. In addition, the systolic blood pressure (SBP) and CRP levels were independent predictors of postoperative cTnI elevation.³⁷ In the present study, only 9 (10.2%) of 88 patients had a hs-cTnT level above 14 pg/mL, which is the predefined cutoff that the manufacturer recommends for a positive test (for myocardial injury), and significantly positive correlations were observed between hs-cTnT levels and SBP, but the hs-cTnT level was not associated with clinical outcome. This result may be due to cTnT having less predictive value than cTnI in cancer patients.³⁸

Prior investigations have shown that even small elevations in cTnT and BNP levels predict worse outcomes among patients with stable congestive heart failure.³⁹ Furthermore, cardiac

troponin is a biomarker of cardiac injury that is undetectable in healthy subjects,⁴⁰ and Latini et al.³⁹ showed that patients with cTnT levels exceeding more than 10 pg/mL had worse cardiac outcomes and significantly increased mortality compared with patients with cTnT levels below 10 pg/mL. All samples that were evaluated in our study had detectable values of hs-cTnT, and 22 (25%) of 88 patients had a hs-cTnT level above 10 pg/mL at study entry. In accordance with Latini et al.,³⁹ NT-proBNP was also significantly correlated with hs-cTnT.

Anticancer therapy is known to be cardiotoxic,⁶ and studies have shown that postoperative cardiac risk increases after head and neck cancer surgery.^{36,37} The present study shows that the cardiac biomarkers, CRP and NT-proBNP, can influence the clinical outcome of patients with HNSCC even prior to the initiation of any therapy. A previous study reported that 23% of patients with HNSCC had cardiovascular disease and 24% had uncontrolled blood pressure at diagnosis, but no serum biomarkers were evaluated.⁴¹ Therefore, it is important to consider strategies for cardiovascular disease prevention in HNSCC that involve primary care, oncology, and cardiology professionals.

The most frequent cytotoxic agents used to treat head and neck cancers are cisplatin and 5-fluorouracil; these agents have serious cardiotoxic effects.⁴² Additionally, radiotherapy proved to be a significant protective factor in relation to other types of therapy, confirming the fact that the combined use of chemotherapy and radiation is associated with higher treatment-related toxicities than the use of radiation alone.⁴³

There are a few limitations to the present study. CRP is known to be a non-specific marker of inflammation; it is also possible that the presence of other systemic diseases could influence the serum biomarker levels. We were not able to evaluate clinical signs of cardiac damage, but the lack of evidence of an affected heart function does not exclude the possibility of late cardiac deterioration. Moreover, the unmasking of preexisting subclinical disease appears to be possible with the use of rapid and cost-effective biomarkers, such as CRP and NT-proBNP, in blood. For

example, screening asymptomatic patients with a BNP test and performing echocardiography if the BNP is abnormal resulted in a less expensive approach.⁴⁴

In conclusion, increased pretreatment CRP and NT-proBNP levels seem to significantly affect the 3-year OS in HNSCC patients. These biomarkers are rapid, cost effective and are performed in routine laboratory testing; they could be helpful in identifying early cardiac dysfunction to optimize patient care and develop pretreatment cardioprotective strategies.

References

1. Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol* 2006;24:2137–2150.
2. Msaouel P, Massarelli E. Immune Checkpoint Therapy in Head and Neck Cancers. *Cancer J* 2016;22:108–116.
3. Döbrössy L. Epidemiology of head and neck cancer: magnitude of the problem. *Cancer Metastasis Rev* 2005;24:9–17.
4. Neville BW, Day TA. Oral cancer and precancerous lesions. *CA Cancer J Clin* 2002;52:195–215.
5. Kyrgias G, Hajjiioannou J, Tolia M, et al. Intraoperative radiation therapy (IORT) in head and neck cancer a systematic review. *Medicine (Baltimore)* 2016;95:e5035.
6. Henri C, Heinonen T, Tardif JC. The Role of Biomarkers in Decreasing Risk of Cardiac Toxicity after Cancer Therapy. *Biomark Cancer* 2016;8:39–45.
7. Herrmann J, Lerman A. An update on cardio-oncology. *Trends Cardiovasc Med* 2014;24:285–295.
8. Rose BS, Jeong JH, Nath SK, Lu SM, Mell LK. Population-based study of competing mortality in head and neck cancer. *J Clin Oncol* 2011;29:3503–3509.

9. Kang H, Kiess A, Chung CH. Emerging biomarkers in head and neck cancer in the era of genomics. *Nat Rev Clin Oncol* 2015;12:11–26.
10. Peter F, Wittekindt C, Finkensieper M, Kiehntopf M, Guntinas-Lichius O. Prognostic impact of pretherapeutic laboratory values in head and neck cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013;139:171–178.
11. Haddad RI, Shin DM. Recent advances in head and neck cancer. *N Engl J Med* 2008;359:1143–1154.
12. Cardinale D, Sandri MT. Role of biomarkers in chemotherapy-induced cardiotoxicity. *Prog Cardiovasc Dis* 2010;53:121–129.
13. Chandrashekar S. C-reactive protein: An inflammatory marker with specific role in physiology, pathology, and diagnosis. *Internet J Rheumatol Clin Immunol* 2014;2:1–23.
14. Boffetta P. Exploring a cancer biomarker: the example of c-reactive protein. *J Natl Cancer Inst* 2010;102:142–143.
15. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003;107:363–369.
16. Smeeth L, Thomas SL, Hall AJ, Hubbard R, Farrington P, Vallance P. Risk of myocardial infarction and stroke after acute infection or vaccination. *N Engl J Med* 2004;351:2611–2618.
17. Heikkilä K, Ebrahim S, Rumley A, Lowe G, Lawlor DA. Associations of circulating C-reactive protein and interleukin-6 with survival in women with and without cancer: findings from the British Women's Heart and Health Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:1155–1159.
18. Hefler LA, Concin N, Hofstetter G, et al. Serum C-reactive protein as independent prognostic variable in patients with ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:710–714.

19. Chen HH, Chen IH, Liao CT, Wei FC, Lee LY, Huang SF. Preoperative circulating C-reactive protein levels predict pathological aggressiveness in oral squamous cell carcinoma: a retrospective clinical study. *Clin Otolaryngol* 2011;36:147–153.
20. Gockel I, Dirksen K, Messow CM, Junginger T. Significance of preoperative C-reactive protein as a parameter of the perioperative course and long-term prognosis in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the oesophagus. *World J Gastroenterol* 2006;12:3746–3750.
21. Hashimoto K, Ikeda Y, Korenaga D, et al. The impact of preoperative serum C-reactive protein on the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2005;103:1856–1864.
22. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined – a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:959–969.
23. Cacciaputo F. Natriuretic Peptide System and Cardiovascular Disease. *Heart Views* 2010;11:10–15.
24. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol* 2010;17:1471–1474.
25. Pavo N, Raderer M, Hülsmann M, et al. Cardiovascular biomarkers in patients with cancer and their association with all-cause mortality. *Heart* 2015;101:1874–1880.
26. Szkandera J, Gerger A, Liegl-Atzwanger B, et al. Validation of the prognostic relevance of plasma C-reactive protein levels in soft-tissue sarcoma patients. *Br J Cancer* 2013;109:2316–2322.
27. Thurner EM, Krenn-Pilko S, Langsenlehner U, et al. The elevated C-reactive protein level is associated with poor prognosis in prostate cancer patients treated with radiotherapy. *Eur J Cancer* 2015;51:610–619.
28. Kruse AL, Luebbbers HT, Grätz KW. C-reactive protein levels: a prognostic marker for patients with head and neck cancer? *Head Neck Oncol* 2010;2:21.

29. Andersson BA, Lewin F, Lundgren J, et al. Plasma tumor necrosis factor-alpha and C-reactive protein as biomarker for survival in head and neck squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2014;140:515–519.
30. Tchernof A, Nolan A, Sites CK, Ades PA, Poehlman ET. Weight loss reduces c-reactive protein levels in obese postmenopausal women. *Circulation* 2002;105:564–569.
31. Golpe R, Martín-Robles I, Sanjuán-López P, et al. Differences in systemic inflammation between cigarette and biomass smoke-induced COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2017;12:2639–2646.
32. Gimeno E, Gómez M, González JR, et al. NT-proBNP: a cardiac biomarker to assess prognosis in non-Hodgkin lymphoma. *Leuk Res* 2011;35:715–720.
33. Bando S, Soeki T, Matsuura T, et al. Plasma brain natriuretic peptide levels are elevated in patients with cancer. *PLoS One* 2017;12:e0178607.
34. Gildener-Leapman N, Ferris RL, Bauman JE. Promising systemic immunotherapies in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2013;49:1089–1096.
35. Tuñón J, Higuera J, Tarín N, et al. N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide is associated with a future diagnosis of cancer in patients with coronary artery disease. *PLoS One* 2015;10:e0126741.
36. Nagele P, Rao LK, Penta M, et al. Postoperative myocardial injury after major head and neck cancer surgery. *Head Neck* 2011;33:1085–1091.
37. Nouraei SAR, Al-Yaghchi C, Sandhu GS, Giussani DA, Doyle P, Clarke PM. Incidence and significance of myocardial injury after surgical treatment of head and neck cancer. *Laryngoscope* 2007;117:1581–1587.
38. Christenson ES, James T, Agrawal V, Park BH. Use of biomarkers for the assessment of chemotherapy-induced cardiac toxicity. *Clin Biochem* 2015;48:223–235.

39. Latini R, Masson S, Anand IS, et al. Prognostic value of very low plasma concentrations of troponin T in patients with stable chronic heart failure. *Circulation* 2007;116:1242–1249.
40. Wallace TW, Abdullah SM, Drazner MH, et al. Prevalence and determinants of troponin T elevation in the general population. *Circulation* 2006;113:1958–1965.
41. Okoye CC, Bucher J, Tatsuoka C, et al. Cardiovascular risk and prevention in patients with head and neck cancer treated with radiotherapy. *Head Neck* 2017;39:527–532.
42. Senkus E, Jassem J. Cardiovascular effects of systemic cancer treatment. *Cancer Treat Rev* 2011;37:300–311.
43. Forastiere AA, Goepfert H, Maor M, et al. Concurrent chemotherapy and radiotherapy for organ preservation in advanced laryngeal cancer. *N Engl J Med* 2003;349:2091–2098.
44. Scott MG. When do new biomarkers make economic sense? *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2010;242:90–95.

Figure Legends

Fig. 1. Kaplan–Meier curves showing the 3-year overall survival categorized by (A) C-reactive protein (CRP) with a cut-off value of 5 mg/L (n = 104), (B) N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) with a cut-off value of 125 pg/mL (n = 80) and (C) high-sensitive cardiac troponin T (hs-cTnT) with a cut-off value of 7.6 pg/mL (n = 88) for patients with head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). (Log-rank test was used to compare the groups)

Table 1. Characteristics of patients with HNSCC (n = 118).

Variables [†]	Total	Survival	Death	<i>P</i> value
	n (%)	n (%)	n (%)	
Age at diagnosis (years)				
< 60	66 (55.9)	44 (54.3)	22 (59.5)	0.60
≥ 60	52 (44.1)	37 (45.7)	15 (40.5)	
Sex				
Male	98 (83.1)	68 (84)	30 (81.1)	0.70
Female	20 (16.9)	13 (16)	7 (18.9)	
Currently smoking				
Yes	66(55.9)	41 (51.9)	25 (67.6)	0.21
No	16(13.5)	11 (13.9)	5 (13.5)	
Ex-smokers	34(28.8)	27 (34.2)	7 (18.9)	
Unknown	2(1.7)			
Alcohol consumption				
Yes	53 (44.9)	34 (43)	19 (51.4)	0.58
No	11 (9.3)	7 (8.9)	4 (10.8)	
Ex-drinkers	52 (44)	38 (48.1)	14 (37.8)	
Unknown	2 (1.7)			
Primary tumor location				
Oral cavity	67 (56.8)	48 (59.3)	19 (51.4)	0.54
Oropharynx	37 (31.4)	25 (30.9)	12 (32.4)	
Hypopharynx	3 (2.5)	1 (1.2)	2 (5.4)	

Larynx	11 (9.3)	7 (8.6)	4 (10.8)	
TNM classification				
I + II (early)	52 (44.1)	41 (50.6)	11 (29.7)	0.03*
III + IV (advanced)	66 (55.9)	40 (49.4)	26 (70.3)	
Tumor size				
T1 + T2	58 (49.1)	45 (55.6)	13 (35.1)	0.04*
T3 + T4	60 (50.9)	36 (44.4)	24 (64.9)	
N				
Negative	79 (66.9)	56 (69.1)	23 (62.2)	0.45
Positive	39 (33.1)	25 (30.9)	14 (37.8)	
Treatment				
Surgery	29 (23.7)	28 (34.6)	1 (2.7)	0.007*
Radiotherapy	9 (7.6)	5 (6.2)	4 (10.8)	
Surgery + RT	9 (7.6)	6 (7.4)	3 (8.1)	
Surgery + RT + CHT	14(12.7)	8 (9.9)	6 (16.2)	
RT + CHT	57 (48.4)	34 (42)	23 (62.2)	
BMI (kg/m²)				
Mean ± SD	23.9 ± 4.13	24.47 ± 3.7	22.77 ± 4.7	0.02*
SBP (mmHg)				
Mean ± SD	142 ± 26	144 ± 27	136 ± 22	0.15

HNSCC = head and neck squamous cell carcinoma; RT = radiation therapy; CHT = chemotherapy; SD = standard deviation; BMI = body mass index; SBP = systolic blood pressure; T = tumor size; N = lymph node involvement.

†Chi-square test was used for comparison of qualitative variables and Mann Whitney test for comparisons of continuous variables.

* $P < 0.05$.

Table 2. Univariate and multivariate Cox proportional analyses of survival according to clinicopathological variables and serum levels of CRP, NT-proBNP and hs-cTnT.

Variable	Univariate analysis			Multivariate analysis	
	Patient (n)	HR (95% CI)	P value	HR (95% CI)	P value
Age at diagnosis (years)					
<60	66	reference			
≥60	52	0.87 (0.45 – 1.68)	0.683		
Sex					
Female	20	reference			
Male	98	0.81 (0.35 – 1.83)	0.607		
Smoking					
No	16	reference			
Yes	66	1.1 (0.42 – 2.87)	0.846		
Alcohol					
No	11	reference			
Yes	53	0.82 (0.31 – 2.60)	0.824		
TNM classification					
I + II (early)	52	reference		reference	
III + IV (advanced)	66	2.16 (1.06 – 4.38)	0.032*	0.81 (0.26 – 2.58)	0.727
Tumor site					
Oral cavity	67	reference			
Oropharynx	37	0.74 (0.25 – 2.20)	0.598		
Hypopharynx	3	0.90 (0.29 – 2.80)	0.863		
Larynx	11	2.18 (0.39 – 11.93)	0.368		
Treatment					
Surgery	29	reference		reference	

Radiotherapy	9	0.06 (0.01 – 0.48)	0.008*	0.03 (0.004 – 0.39)	0.006*
Surgery + RT	9	1.30 (0.45 – 3.76)	0.627	1.14 (0.24 – 5.43)	0.862
Surgery + RT + CHT	14	0.79 (0.23 – 2.65)	0.709	0.98 (0.16 – 5.96)	0.984
RT + CHT	57	1.04 (0.42 – 2.56)	0.927	0.81 (0.26 – 2.52)	0.715
BMI (kg/m²)	116	0.91 (0.84 – 0.99)	0.032*	0.91 (0.81 – 1.03)	0.128
SBP (mmHg)	114	0.98 (0.97 – 1.0)	0.056		
CRP level					
<5 mg/L	73	reference		reference	
≥5 mg/L	31	2.02 (1.03 – 3.95)	0.039*	3.71 (1.44 – 9.53)	0.007*
NT-proBNP level					
<125 pg/mL	61	reference		reference	
≥125 pg/mL	19	2.31 (1.07 – 5.03)	0.033*	5.04 (2.02– 12.55)	0.001*
hs-cTnT level					
<7.6 pg/mL	45	reference			
≥7.6 pg/mL	43	0.82 (0.38 – 1.78)	0.623		

RT = radiation therapy; CHT = chemotherapy; BMI = body mass index; SBP = systolic blood pressure; CRP = C-reactive protein; NT-proBNP = N-terminal probrain natriuretic peptide; hs-cTnT = high-sensitive cardiac troponin T; HR = hazard ratio; CI = confidence interval.

* $P < 0.05$.

Table 3. Correlation between serum biomarkers and clinicopathological factors.

	BMI (kg/m²)	TNM classification	SBP (mmHg)	hs-cTnT (pg/mL)
CRP (mg/L)				
<i>r_s</i>	0.240	0.225	-0.160	-0.215
<i>P</i> value	0.01*	0.02*	0.11	0.06
hs-cTnT (pg/mL)				
<i>r_s</i>	0.137	-0.260	0.268	
<i>P</i> value	0.20	0.01*	0.01*	
NT-proBNP (pg/mL)				
<i>r_s</i>	-0.198	-0.047	0.228	0.362
<i>P</i> value	0.08	0.67	0.04*	0.00*

CRP = C-reactive protein; NT-proBNP = N-terminal probrain natriuretic peptide; hs-cTnT = high-sensitive cardiac troponin T; BMI = body mass index; SBP = systolic blood pressure; *r_s* = Spearman's correlation coefficients.

**P* < 0.05.

